R. PĂUN N. URSEA N. LUCA M. COCULESCU RODICA LUCA

TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ

EDITURA MEDICALĂ

Scanned with OKEN Scanner

Prof. dr. R. PĂUN, conf. dr. N. URSEA, dr. N. LUCA,
dr. M. COCULESCU, dr. RODICA LUCA

TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ

EDITURA MEDICALĂ – BUCUREȘTI, 1972

Scanned with OKEN Scanner

CUPRINS

Pag.

Prefață 11

Partea I

BAZELE IMUNOLOGICE ALE IMUNOSUPRESIEI

Capitolul 1

Substratul morfologic al răspunsului imun 17

Capitolul 2

Toleranța imunologică 22

Capitolul 3

Suprimarea toleranței imunologice 29

Capitolul 4

Răspunsul imun 40

Capitolul 5

Mecanismele efectoare ale conflictului imunologic 50

Capitolul 6

Posibilitățile de imunosupresie terapeutică a răspunsului imun 62

Bibliografie 75

Partea a II-a

MIJLOACELE IMUNOSUPRESIVE

Generalități 83

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 1

Pag.

Drogurile imunosupresive 87
a) Definiție. Generalități 87
b) Factorii care influențează efectul imunosupresiv 88
c) Mecanismul de acțiune al imunosupresivelor 92
d) Clasificarea imunosupresivelor 94
I. Antimetabolicele (citostaticele) 96
a) Antifolicele 99
b) Antipurinicele 101
c) Antipirimidinicele 105
d) Antagoniștii acizilor aminați 106
II. Agenții alchilanți (citotoxicele) 107
a) Derivații β-cloretilaminei 111
b) Derivați etileniminei 116
c) Derivații acidului sulfonic 118
d) Derivații metilhidrazinei 119
III. Antimitoticele 120
IV. Antibioticele antimitotice 122
V. Alți agenți imunosupresivi 126
e) Incidentele și accidentele imunosupresoarelor 130
Bibliografie 138

Capitolul 2

Corticoterapia 143
Structura chimică a corticoizilor utilizați în imunosupresie 145
Căi de administrare 146
Transport, metabolism, eliminare 148
Efectele biologice ale glucocorticoizilor 150
A. Activitatea imunosupresivă 150
Corticoterapia și limfocitele 151
Efectul corticoterapiei asupra sintezei ARN celular 151
I. Depresia fenomenelor imunologice mediate de anticorpi 152
II. Depresia fenomenelor imunologice mediate de celule 152
III. Inhibarea mecanismelor imune efectoare 153
B. Acțiunile antiinflamatoare ale glucocorticoizilor 156
Indicațiile corticoterapiei 158
Principii și responsabilități în corticoterapie 160
Accidentele și contraindicațiile corticoterapiei 162
Tulburările endocrine secundare corticoterapiei 172
Axul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal 172
Procesul de creștere. Hormonul somatotrop 177
Tiroida și ovarul 177
Insulina 178
Parathormonul și tirocalcitonina 178
Contraindicații 178
Bibliografie 178

Capitolul 3

Radioterapia 185
Bazele teoretice ale radioterapiei imunosupresive 186
Tehnică și metode de administrare 188
Tipul radiațiilor ionizante folosite în terapia imunosupresivă 188
Mod de administrare 188
Bibliografie 193

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 4

Pag.

Serul antilimfocitar 195
Prepararea serului antilimfocitar 196
Efectele experimentale 198
Efectele globulinei antilimfocitare la om 200
Mecanismele de acțiune 201
Administrarea globulinei antilimfocitare 203
Evaluarea efectelor globulinei antilimfocitare 204
Efectele secundare 205
Bibliografie 207

Capitolul 5

Splenectomia — mijloc de terapie imunosupresivă 210
Efectele imunologice ale splenectomiei 212
Indicații și rezultate clinice 212
Bibliografie 214

Capitolul 6

Timectomia 216
Rolul imunologic al timusului 218
Timusul și toleranța imunologică la **self** 224
Timectomia și autoimunitatea la om 226
Bibliografie 230

Capitolul 7

Drenarea canalului limfatic toracic 233
Circulația limfocitelor în organism 234
Tehnică 235
Incidente 236
Rezultate 236
Efectul drenării canalului toracic asupra limfocitelor 236
Efectul drenării canalului toracic asupra proceselor imune 237
Indicații. Scheme terapeutice 238
Bibliografie 239

Capitolul 8

Utilizarea anticorpilor umorali sau legați de celule 242
Mascarea determinanților antigenici prin anticorpi specifici administrați pasiv 242
Blocarea prin ser antiimunoglobulinic a receptorului imunoglobulinic celular pentru antigen 244
Acțiunea citotoxică a serului antilimfocitar asupra limfocitelor 244
Indepărtarea limfocitelor sensibilizate specific 244
Bibliografie 245

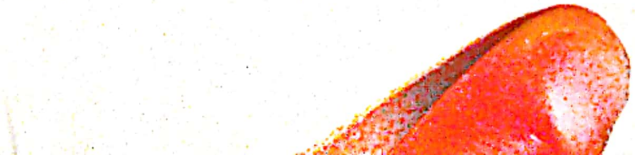
Partea a III-a

PRACTICA IMUNOSUPRESIEI

Generalități 249
Bibliografie 251

Capitolul 1

Bazele imunologice ale bolilor de autoagresiune 252
Necesitatea terapei imunosupresive în clinica medicală 252
Poliartrita reumatoidă 252



Scanned with OKEN Scanner

Lupusul eritematos diseminat 257
Sclerodermia şi dermatomiozita 260
Reumatismul articular acut 261
Boli autoimune sanguine 262
Bolile autoimune afectînd seria roşie 262
1. Anemiile hemolitice autoimune cu anticorpi la cald 262
2. Anemia hemolitică după α-metildopa (aldomet). 263
3. Anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la rece 263
4. Hemoglobinuria paroxistică la rece 264
5. Anemiile hemolitice induse de medicamente 264
Boli autoimune afectînd trombocitele 265
Boli autoimune afectînd leucocitele 265
1. Granulopenia idiopatică 265
2. Leucopenia şi agranulocitoza datorite medicamentelor 266
Glomerulonefritele şi glomerulonefrozele 266
Bolile autoimune ale tubului digestiv 269
1. Gastrita cronică atrofică 269
2. Colita ulceroasă 269
3. Sindromul Crohn 271
4. Hepatite cronice active 271
5. Ciroza biliară primară 273
Sarcoidoza 274
Sindromul Sjögren 275
Boli autoimune musculare 275
Miastenia gravă 275
Boli autoimune ale sistemului nervos central 278
Scleroza multiplă. Encefalomielita postvaccinală. Encefalita postexantematoasă 278
Bolile endocrine autoimune 278
Bibliografie 281

Capitolul 2

A. **Terapia imunosupresivă specifică în clinică: prevenirea izoimunizării Rh** 285
Patogenia incompatibilităţii Rh 285
Bazele teoretice ale protecţiei prin anticorpi pasivi 286
Tehnica prevenirii izoimunizării Rh cu anticorpi anti-D 286
Rezultate 288
Limitarea indicaţiilor profilaxiei cu globulină anti-D 288
Bibliografie 289

Capitolul 3

B. **Terapia imunosupresivă în bolile cu mecanism patogenic autoimun** 290
Criterii clinice de aplicare a terapiei imunosupresive 290
Indicaţiile terapiei imunosupresive în boli în care este implicat un mecanism autoimun 295
Modul de administrare 297
1. Corticoterapia 298
2. Antineoplazicele 300
Rezultatul terapiei antineoplazice în bolile autoimune 302
3. Splenectomia 305
4. Radioterapia 305
5. Serul şi globulina antilimfocitară 307
6. Timectomia 309
7. Drenarea canalului limfatic 309
Bibliografie 309

Scanned with OKEN Scanner

Capitolul 4

Terapia imunosupresivă în transplantarea organelor 315
Mecanismul respingerii grefei 316
Principii teoretice de combatere a respingerii transplantului 318
Principiile practice ale terapiei imunosupresive nespecifice în transplantarea organelor 320
Mijloacele imunosupresive folosite în transplantările de organe 321
1. Chimioterapia imunosupresivă 321
2. Radiaţiile ionizante 325
3. Serul şi globulina antilimfocitară 327
4. Drenajul canalului toracic 329
5. Timectomia 329
6. Splenectomia 330
Selecţia donatorilor 331
Rezultatul imunosupresiei aplicate în transplantarea de organe 333
Scheme terapeutice 333
Imunosupresia în transplantele de măduvă hematogenă 334
Imunosupresia în transplantele hepatice 335
Imunosupresia în transplantul pancreatic 336
Imunosupresia în grefele de plămîn 337
Imunosupresia în transplantele cardiace 338
Imunosupresia în transplantele renale 340
Tratament de bază 342
Tratamentul respingerii acute a grefei 343
Bibliografie 345

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

PRIMELE FENOMENE IMUNOLOGICE au fost interpretate ca fiind expresia rezistenței organismelor animale la bacterii și toxinele lor. De aceea s-a presupus și chiar acceptat ideea că însușirea de a reacționa specific la un antigen trebuie privită neapărat ca un mecanism de apărare împotriva germenilor microbieni.

Însăși imunologia clasică a putut observa că răspunsurile imune nu duceau invariabil la fenomene favorabile gazdei (reacțiile anafilactice experimentale și cele clinice, boala serului). Astfel, beneficiul gazdei nu poate fi în nici un caz criteriul fundamental de definire a răspunsului imun.

Dovezile recente aduse în sprijinul unor răspunsuri imune umorale și celulare îndreptate împotriva antigenelor autologe cu provocarea conflictului imunologic în cele mai diverse organe și țesuturi au impus schimbarea radicală a acestei optici în ce privește răspunsul imun. El este desigur expresia unei funcții mai generale a vertebratelor — recunoașterea și neutralizarea a ceea ce este străin (nonself).

În prezent înțelegem prin imunitate orice răspuns imunologic specific față de antigenul pe care organismul îl recunoaște drept străin, indiferent dacă răspunsul imun are sau nu valoare protectoare pentru gazdă.

Obiectivele terapeutice ale imunologiei clinice sînt, pe de o parte, producerea unei imunități dorite în mod activ (vaccinări) sau pasiv (seroterapie), iar pe de alta, suprimarea răspunsurilor imune nedorite (imunosupresia). *Astfel, imunoprofilaxia și autoimunitatea nu sînt decît expresii diferite ale aceluiași fenomen fundamental. Față de un antigen recunoscut ca propriu, sistemul imun dezvoltă toleranță; dimpotrivă, față de un antigen străin, sistemul imun dezvoltă un răspuns imunologic.*

Scanned with OKEN Scanner

Lucrarea de față este consacrată terapiei imunosupresive, respectiv metodelor prin care este redusă capacitatea unui subiect de a forma anticorpi sau de a elabora reacții mediate de celulele sensibilizate. Aceste metode sînt utilizate în practica medico-chirurgicală spre a determina o stare de toleranță de importanță vitală pentru funcționalitatea transplantelor de organe, tratamentul bolilor autoimune și al bolilor provocate de mecanisme imunologice de alt tip (de exemplu, boala hemolitică).

Partea întîi a lucrării expune bazele imunologice ale imunosupresiei; partea a doua, mijloacele imunosupresive folosite la om (antineoplazicele, corticoterapia, radioterapia, serul antilimfocitar, splenectomia, timectomia, drenarea canalului limfatic); partea a treia tratează practica imunosupresiei (modul de folosire a mijloacelor imunosupresive în transplantarea organelor, bolile autoimune și profilaxia izoimunizării Rh).

În doze compatibile cu viața, mijloacele imunosupresive utilizate în clinică nu reușesc deocamdată să determine o toleranță perfectă — deci o imunosupresie —, ci doar atenuează răspunsul imunalogic celular sau anticorpic, realizînd o imunodepresie. *Termenul de terapie imunosupresivă este folosit de noi, ca și în literatura de specialitate, cu această rezervă. Imunosupresia parțială pe care o putem obține actualmente în clinică este* nespecifică: *se bazează pe distrugerea brutală, neselectivă, a largi zone din sistemul imunocompetent al organismului, ceea ce expune la numeroase efecte secundare și complicații, mai ales infecțioase, periculoase* quo ad vitam. *În acest sens spuneau Gell și Coombs (1968): „Cu cît vom scăpa mai repede de actualele mijloace imunosupresive, cu atît va fi mai bine".*

Lucrarea de față precizează cele două trăsături esențiale ale terapiei imunosupresive care impun studierea și aplicarea ei în clinică.

În primul rînd, imunosupresia terapeutică este în prezent o necesitate clinică, *cu toate limitele și riscurile ei. În chirurgie, transplantarea cu succes a unor organe are drept primă condiție prevenirea și suprimarea reacțiilor imunologice care determină respingerea grefei. Este suficient să amintim că, pînă în 1959, bariera imunologică părea de netrecut, iar tehnica chirurgicală a transplantărilor, pusă la punct încă de la începutul secolului de Carrel, era neutilizabilă. Folosind un mijloc imunosupresiv considerat actualmente brutal și rudimentar (iradierea totală a receptorului), echipele lui Hamburger (Paris) și Merrill (Boston) au realizat, în 1959, primul transplant renal reușit la om, între indivizi neidentici. Organele transplantate au funcționat perfect timp de nouă ani de la operație. Posibilitatea de a rupe bariera imunologică a determinat găsirea celorlalte metode imunosupresive cunoscute actualmente și practicarea pe scară largă a transplantării diverselor organe.*

În clinica medicală, o dată cu precizarea mecanismului patogen autoimun în producerea sau întreținerea a numeroase afecțiuni (Partea a doua, capitolul 1) *s-a remarcat utilitatea terapiei imunosupresive în formele grave, cu pericol* quo ad vitam, *mai ales la copii, la care terapia mixtă cu antineoplazice și prednison permite scăderea dozelor la un nivel la care efectele secundare sînt minime, iar tulburările de creștere*

Scanned with OKEN Scanner

şi dezvoltare sau alte accidente ale corticoterapiei, ca şi corticorezistenţa, sînt evitate (Partea a doua, capitolul 3).

În al doilea rînd, imunosupresia specifică se întrevede în viitor drept un mijloc obligatoriu de terapie patogenică. *Actualele mijloace imunosupresive sînt periculoase şi cu eficienţă limitată. Procesul imun, ca şi intervenţia sa în respingerea grefei şi în patogenia unui număr crescînd de boli, sînt tot mai bine cunoscute. Se impune suprimarea specifică a reacţiilor imune patologice. Progresele realizate în perfecţionarea mijloacelor şi metodelor de imunosupresie clinică, în intervalul extrem de scurt de la prima lor aplicare la om şi pînă astăzi, justifică acest punct de vedere. Deşi acţionează tot nespecific, serul antilimfocitar inhibă de pe acum preferenţial reacţiile imune mediate celular, deschizînd mari perspective* (Partea a doua, capitolul 1; Partea a treia, capitolul 3, capitolul 4). *Mai mult, în clinică a şi început să se aplice cu succes metoda imunosupresiei specifice prin administrare de anticorpi în profilaxia izoimunizării Rh prin administrare de globuline anti-D. Deocamdată, metoda este utilă numai pentru a preveni răspunsul imun primar.*

De aceea, deşi utilizarea clinică a mijloacelor imunosupresive se bazează actualmente mai mult pe observaţia empirică a faptului că este împiedicată respingerea grefei şi că sînt atenuate unele boli autoimune, decît pe cunoaşterea etapelor răspunsului imun şi a locului de acţiune a medicamentelor, deşi dozele folosite în clinică sînt adesea homeopatice faţă de cele cu efect imunosupresiv cert în experimentele pe animale, şi deşi apar numeroase efecte secundare şi complicaţii, considerăm că acestea sînt numai neajunsurile de debut ale unei terapii patogenice absolut necesare practicii medicale, care va dispune în curînd de mijloace specifice şi eficiente cerute de progresul medicinei. De aceea am consacrat Partea întîi *a lucrării unei expuneri sintetice a cunoştinţelor actuale asupra răspunsului imun şi toleranţei imunologice, iar în* capitolul 6 (Partea întîi) *prezentăm o încercare de clasificare fiziopatologică a metodelor de supresie în raport cu dinamica răspunsului imun, clasificare pe care o considerăm utilă, necesară şi cea mai raţională, în ciuda numeroaselor fapte neclarificate în acest vast domeniu. Ea creează o bază ştiinţifică pentru a utiliza în practică mijloacele imunosupresive şi poate fi un stimul al gîndirii creatoare.*

În Partea a treia *a lucrării sînt expuse — pe lîngă argumentele de ordin imunologic care impun imunosupresia în tratamentul bolilor autoimune şi al respingerii transplantelor — principiile practice de instituire şi conducere a acestui tratament, modul de folosire a mijloacelor imunodepresive în clinică. Imunosupresia în transplantele de organe, şi în primul rînd în cele de rinichi, reprezintă pionierul acestui domeniu, experienţa sa constituind baza schemelor terapeutice utilizate în chirurgie şi în clinica medicală. În aplicarea imunosupresiei în bolile cu mecanism patogenic autoimun există date mult mai sărace, adesea fiind comunicate studii pe un număr mic de cazuri, tratate cu substanţe diferite, în doze alese arbitrar, fără grupe martor. De aceea nu se pot expune scheme terapeutice pentru fiecare boală autoimună, ci numai re-*

Scanned with OKEN Scanner

guli și principii care trebuie respectate și indicații generale asupra dozelor și asocierilor medicamentoase posibile (Partea a treia, capitolul 2). *O bună parte din numeroasele rezultate publicate în literatură sînt expuse sintetic în tabelul XIX; unificarea lor în scheme rigide nu este însă posibilă.*

În schimb, în terapia respingerii grefelor, deși există numeroase variante dependente de echipa chirurgicală, schemele terapeutice generale sînt asemănătoare, fiind prezentate în Partea a treia, capitolul 4, *în funcție de tipul organului transplantat.*

Pe măsura extinderii cunoștințelor noastre în acest domeniu, tratamentul se va apropia tot mai mult de etapele inițiale ale răspunsului imun, ținta finală fiind antigenul declanșant. Terapia imunosupresivă specifică și radicală reprezintă o terapie a viitorului, urmînd a se dovedi dacă speranțele puse în ea au fost sau nu justificate.

Autorii exprimă mulțumiri profesorului E. Sorkin pentru amabilitatea de a le fi pus la dispoziție, pentru documentare, lucrările simpozionului The immune response and its suppression, *editate de domnia sa.*

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA I

BAZELE IMUNOLOGICE ALE IMUNOSUPRESIEI

Scanned with OKEN Scanner

1

SUBSTRATUL MORFOLOGIC AL RĂSPUNSULUI IMUN

Sistemul imun este reprezentat de un complex de celule dispersate în întregul corp (celule reticulare, macrofage, limfocite, plasmocite, diverse forme celulare intermediare), concentrate în mod special în splină, ganglionii limfatici, timus, submucoasa tubului digestiv, amigdale, apendice, şi specializate în a răspunde adecvat la unul sau mai mulţi stimuli antigenici.

Din studii filogenetice (45) rezultă că dezvoltarea răspunsului imun depinde de apariţia timusului şi coincide, atît în filogenie, cît şi în ontogenie, cu apariţia structurilor limfoide organizate şi a *limfocitelor* circulante. Răspunsul imun pare să fie limitat la vertebrate.

Modificările anatomice şi funcţionale care apar în ţesutul limfatic după timectomie sau bursectomie au sugerat ideea că timusul şi bursa lui Fabricius ar fi organe limfoide primitive care controlează dezvoltarea sistemului limfatic din alte ţesuturi limfoide.

Din acest punct de vedere se vorbeşte despre *un sistem limfoid central,* alcătuit din timus — prezent la toate vertebratele —, bursa lui Fabricius la păsări, sau ţesuturile homologe acesteia la mamifere (plăcile Peyer, apendicele ? amigdalele ?) şi despre *un ţesut limfoid periferic,* alcătuit din ganglionii limfatici, splină şi ţesuturile limfatice din structura tubului digestiv.

Timectomia neonatală duce, din punct de vedere morfologic, la împuţinarea limfocitelor mici ale *pool*[1]-ului circulant, competente imunologic, şi la atrofia zonelor traversate de aceste celule (ariile limfocitare ganglionare şi cele din vecinătatea arteriolelor splenice), numite de aceea „arii timodependente". Din punct de vedere funcţional, timecto-

[1] *Pool* (în lmb. engleză)=totalitate, fond comun (*n.red.*)

Scanned with OKEN Scanner

mia se manifestă prin afectarea reacţiilor imune mediate de celule (hipersensibilitatea tardivă, respingerea homografei). Efectele timectomiei se corectează prin grefare de timus, de ţesut timic în camere de difuziune sau administrare de celule limfatice periferice provenind de la aceeaşi specie.

La păsări, bursectomia precoce determină împuţinarea plasmocitelor, atrofia foliculilor limfatici şi a centrilor germinativi, iar funcţional, o scădere sau chiar incapacitatea de a elabora anticorpi circulanţi. Efectele bursectomiei se corectează prin grefarea bursei sau a ţesutului bursal în camere de difuziune.

Aceste observaţii sugerează existenţa a două sisteme limfoide distincte: unul *timodependent,* responsabil de imunitatea celulară, şi altul *bursodependent,* responsabil de imunitatea umorală.

Graţie acestor structuri limfatice, sistemul imun îşi exercită funcţia sa de a răspunde la stimuli antigenici străini prin două mecanisme fundamentale: 1) producerea unor anticorpi umorali (imunitate umorală); 2) dezvoltarea unor celule sensibilizate (imunitate celulară).

Astăzi, distincţia dintre cele două tipuri de răspuns imun e considerată artificială şi nefondată, întrucît la ambele tipuri participă, într-un fel sau altul, celule imunologic competente şi anticorpi liberi sau fixaţi de celule (76).

În anii anteriori, baza morfologică a răspunsului imun se credea că este reprezentată de sistemul reticulo-histiocitar şi de plasmocit.

Limfocitul mic e considerat acum celula centrală a răspunsului imun. Se prezintă ca o celulă rotundă, mică, de 5—8 μ, cu nucleu dens, înconjurat de un inel subţire de citoplasmă palidă. Este o celulă nefagocitară, cu un tip caracteristic de mişcare: un proces asemănător unui picioruş se dezvoltă din celulă, dîndu-i un aspect de „oglindă de mînă". Graţie acestei mişcări proprii, limfocitele se pot deplasa în orice ţesut, la locurile de apariţie a antigenului sau la locurile de inflamaţie.

Limfocitele mici sînt distribuite în tot corpul, dar îndeosebi în ganglionii limfatici, ţesutul limfatic al tubului digestiv, splină, timus, măduva oaselor.

Uneori rămîn inactive perioade îndelungate, într-un fel de „hibernare" (27), avînd în intervalul respectiv un metabolism foarte scăzut. În urma unui stimul antigenic străin, aceste celule se măresc, proliferează, suferă o transformare blastică, creşte sinteza de acid dezoxiribonucleic şi acid ribonucleic, prezintă numeroase mitoze.

Un asemenea stimul antigenic este şi fitohemaglutinina, un extract de fasole pitică, sub influenţa căreia limfocitele mici aparent adulte, „finale", suferă o transformare în celule mari cu nucleu reticular şi nucleoli: celulele blastice, avînd toate caracterele de primitivitate, o dată apărute, continuă replicarea acidului dezoxiribonucleic şi suferă mitoze succesive.

Scanned with OKEN Scanner

Aceste limfocite mici par a fi substratul morfologic al „memoriei imunologice", în sensul că la o a doua expunere la un acelaşi antigen are loc un proces foarte activ de dediferenţiere şi proliferare.

Limfocitele mici reprezintă o populaţie celulară extrem de heterogenă, diferind între ele prin origine, funcţie şi evoluţie. Convenţional se descriu trei compartimente celulare, dar chiar în sînul lor există o heterogenitate funcţională.

Limfocitele mici ale măduvei oaselor sînt incompetente imunologic. Trăiesc puţin, doar trei zile. Părăsesc măduva, trecînd printre celulele endoteliului sinusoidal, şi sînt capabile să repopuleze organele limfoide periferice după o iradiere letală, putînd genera şi seria eritrocitară şi cea monocitară; prin urmare, sînt celule hematopoetice tulpină.

Limfocitele mici timice au următoarele caracteristici: nu răspund la stimularea antigenică, adică sînt incompetente imunologic, nu au o organizare foliculară şi nici nu formează centri germinativi; se înmulţesc cu mare viteză, indicele lor mitotic fiind de cinci-zece ori mai mare decît acela al limfocitelor periferice.

Cu toată această diviziune rapidă, marea majoritate a timocitelor (aproximativ 95%) nu părăsesc organul, ci îşi încheie viaţa în timus după numai trei zile de existenţă. Prin capacitatea lor de a transfera altor celule acid dezoxiribonucleic şi alte substanţe citoplasmatice, ele ar acţiona ca „trefocite". Numai 5% din celule migrează în afara timusului, au o viaţă lungă şi reprezintă probabil contribuţia organului la *pool*-ul de limfocite mici circulante. Nu li se cunoaşte exact funcţia.

Timocitele se mai diferenţiază de restul limfocitelor mici şi prin următoarele însuşiri: posedă antigene celulare distincte, sînt sensibile la serul de cobai şi la izoanticorpii naturali prezenţi în serul anumitor specii de şoareci, extrem de sensibile la acţiunea hormonilor, radiaţiilor ionizante, substanţelor chimice, factorilor nutriţionali.

Limfocitele mici ale pool-ului circulant provin în marea majoritate din ganglionii limfatici şi splină şi trăiesc extrem de mult (luni de zile la rozătoare, ani de zile la om). De aceea sînt considerate suportul material al memoriei imunologice. Exercită un adevărat „trafic" celular, fiind recirculate prin aceleaşi regiuni: canalul toracic, prin sînge la ganglionii limfatici, arteriolă, capilar, venulă postcapilară, pe care o părăsesc trecînd prin celula endotelială, traversează ganglionul limfatic trecînd prin ariile limfocitare sau traversează splina trecînd prin stratul de limfocite mici din jurul arteriolelor splenice. În fine, părăsesc ganglionul pe căile limfatice eferente, trecînd din nou în ductul toracic (48). Celulele endoteliale traversate de limfocite dispun de un foarte fin mecanism selectiv care distinge structuri biochimice specifice de pe membrana celulară a limfocitelor mici circulante, deosebindu-le în acest mod de alte tipuri de limfocite (67). De aceea, limfocitele moarte (47), limfocitele incubate cu enzime care degradează membrana celulară (de tipul neuraminidazei sau glicozidazei) (36) sau cu ser anti-

limfocitar nu au acces la canalul toracic, nemaiputînd traversa celulele endoteliale. Ele sînt astfel fagocitate, recirculaţia acestor celule modificate e blocată. Numai limfocitele indemne efectuează ciclul hemo-limfatic menţionat.

Din pricina acestei mişcări şi a capacităţii lor de dediferenţiere, ele se mai numesc şi limfokinetocite (103). Se poate constata că, în mod normal, traficul celular nu mai trece prin timus.

Cea mai importantă caracteristică a acestor celule o constituie faptul că sînt imunologic competente. Sub acelaşi aspect morfologic se ascund atît celule imunologic competente, dar neangajate, cît şi celule imunologic competente care în urma contactului cu antigenul au fost angajate la un răspuns imun.

Limfocitele mici ale *pool*-ului circulant reprezintă de fapt substratul morfologic, atît al imunităţii umorale, cît şi al imunităţii celulare. Ele nu pot funcţiona însă ca celule tulpină.

Funcţiile imunologice ale limfocitelor mici sînt multiple:

1. reprezintă unităţile de recunoaştere a *self*-ului şi *nonself*-ului;

2. asigură răspunsul imun primar prin angajarea în răspunsul imun după contactul cu antigenul;

3. sînt celulele cu „memorie", de ele depinzînd răspunsul imun anamnestic (secundar);

4. sînt celulele efectoare ale hipersensibilităţii tardive;

5. determină respingerea homografelor;

6. restabilesc competenţa imunologică la un receptor iradiat;

7. produc reacţia grefei împotriva gazdei;

8. sînt probabil sursa factorului inhibitor al migrării macrofagelor şi a factorului de permeabilitate ganglionară.

În cursul răspunsului imun se realizează o adevărată „cooperare" între celule. Au fost identificate patru tipuri de interacţiuni (76):

a) Macrofag→limfocit. Macrofagul joacă un rol important în prezentarea antigenului la limfocit. El captează antigenele organizate (celule, bacterii), care, prezentate ca atare limfocitului, nu sînt imunogene sau funcţionează ca un dispozitiv de concentrare pentru antigenele proteice solubile. Probabil că în macrofag nu are loc nici un proces semnificativ de prelucrare în sens chimic a antigenului.

b) Limfocit→macrofag. După stimularea prin antigen, limfocitele secretă o proteină cu proprietatea de a inhiba migrarea macrofagelor *in vitro* sau de a atrage macrofagele *in vivo*. Acesta ar fi un mecanism de amplificare a răspunsului imun.

c) Limfocite timice→limfocite medulare (ganglionare). Timocitele migrate în ganglionii limfatici cresc răspunsul imun la stimulul antigenic, deoarece, în absenţa lor, numărul final de celule producătoare de anticorpi este redus.

d) Imunocit→macrofag (timocit?). S-a constatat o „cooperare" între determinanţii antigenici în timpul răspunsului imun la antigen cu mai mulţi determinanţi antigenici.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel, răspunsul anticorpic împotriva unei părți a unui antigen complex crește răspunsul imun la ceilalți determinanți grație unui anticorp de tip 19 S, zis și „anticorp de cooperare", care acționează ca un mecanism de concentrare a antigenului la suprafața macrofagului.

Deoarece o asemenea cooperare se poate obține însă și *in vitro*, stimulînd prin antigene limfocitele canalului toracic fără participarea macrofagelor, s-a presupus că de cooperarea menționată pare să fie responsabilă o populație celulară derivată din timus.

Pe calea citată, a cooperării între determinanți, răspunsul imun s-ar putea extinde de la un determinant antigenic străin la unul comun cu al gazdei, dar situat pe aceeași moleculă. Acesta ar putea fi mecanismul de suprimare a toleranței prin reacția imunologică încrucișată, declanșată de determinanți antigenici comuni.

Toate exemplele de cooperare celulară pot fi interpretate ca mecanisme de amplificare a răspunsului imun. Imunosupresia răspunsului imun va trebui să vizeze și aceste mecanisme.

Scanned with OKEN Scanner

2

TOLERANȚA IMUNOLOGICĂ

Este o stare specifică de „antiimunitate", un subiect fiind incapabil de un răspuns imun (prin anticorpi sau celule imunologic competente) la unul sau mai multe antigene, păstrîndu-şi însă nealterată capacitatea de a reacționa în mod normal la alte antigene.

Omul, ca şi restul animalelor dotate cu un sistem imun matur, nu dezvoltă un răspuns imun la marea majoritate a antigenelor proprii *(self)*. Aceasta este *toleranța naturală*, înnăscută pentru antigenele proprii.

S-a sugerat că, în timpul vieții embrionare, „țesuturile învață să se cunoască unul pe celălalt". Timusul ar exercita o funcție de „cenzură": la acest nivel, celulele care au intrat în contact cu *self*-antigenele sînt distruse sau făcute incapabile să prolifereze la un nou contact cu antigenele proprii. Acestea sînt clonele celulare interzise (11; 66).

Deşi, după unele dovezi experimentale, baza toleranței ar putea s-o constituie interacțiunea antigenelor cu limfocitele în timus, toleranța imunologică specifică a putut fi indusă la animalul adult timectomizat; cu alte cuvinte, sistemul limfoid periferic poate deveni tolerant independent de timus sau în absența lui.

Puținele celule imunologic competente existente în timus sînt influențate la fel pentru a produce toleranța ca şi celulele imunologic competente din orice altă parte a corpului (77).

Deci, recunoaşterea *self*-ului pare să aibă loc în cursul vieții embrionare, iar toleranța la *self* persistă cît timp antigenele în cauză rămîn accesibile celulelor limfatice. Perioada embrionară şi cea neonatală sînt favorizate în inducerea toleranței, deoarece în răstimpul respectiv sistemul macrofagic e slab dezvoltat, iar celulele imunologic competente ar prezenta o permeabilitate crescută la antigene. Astfel se realizează condiția esențială a toleranței: accesul liber al antigenelor la celulele imunologic competente.

Scanned with OKEN Scanner

Toleranța imunologică naturală se evidențiază cu claritate în cazul gemenilor monozigoți univitelini, genetic identici și care posedă exact aceleași antigene de histocompatibilitate. Ei acceptă unul de la altul orice tip de grefă, întocmai ca o autografă. Testul de acceptare a grefei cutanate este un test fidel pentru a deosebi gemenii monozigoți (care o acceptă) de cei dizigoți (care o resping). Același comportament îl au liniile de animale consanguine genetic pure, ca de exemplu hamsterul sirian.

În mod normal, răspunsul imun, ca modalitate generală de apărare la o agresiune prin molecule informaționale străine, e îndreptat numai împotriva *nonself*-ului. Înainte însă de a induce un răspuns imun, un antigen (fie el o haptenă, macromoleculă sau o celulă) trebuie recunoscut ca *nonself*.

Limfocitele care inițiază de fapt răspunsul imun trebuie să recunoască într-un fel oarecare antigenul sau celulele străine (în cazul grefelor), iar singurul mod posibil de a realiza acest lucru constă în interacțiunea dintre moleculele limfocitului și antigenul străin.

Deci, limfocitele par să fie „unitățile de recunoaștere". Această funcție o exercită cu ajutorul unui anticorp zis „santinelă", situat pe membrana celulară, reprezentat de acea porțiune din imunoglobuline unde se află locul de combinare specific pentru antigen. Potrivit acestei ipoteze, limfocitul poartă cu el un „dicționar" al determinanților antigenici proprii, reprezentat de imunoglobuline. Dicționarul este consultat prin întîlnirile cu fiecare antigen potențial. Dacă un asemenea antigen nu a putut fi identificat ca *self*, se declanșează răspunsul imun (76). Din aceste considerente, distincția dintre răspunsul imun mediat prin anticorpi umorali și cel mediat prin celule apare nenecesară și artificială. Deci, s-ar putea să existe o singură populație de celule (și nu un sistem timodependent și altul bursodependent), a căror diferențiere să fie controlată și modulată de factori înconjurători.

La om, după timectomie și după o incompletă inducere a toleranței a fost observată în rare condiții patologice o „disociere" între răspunsul mediat de celule și cel mediat de anticorpii umorali. Aceste constatări fuseseră interpretate în sensul a două populații de celule imunologic competente distincte, fiecare însărcinată cu un singur tip de răspuns (76).

Identificarea anticorpilor de recunoaștere pe suprafața limfocitelor mici este îngreunată de imunoglobulinele neanticorpice adsorbite pasiv pe suprafața celulei sau de imunoglobulinele anticorpice secretate în urma stimulării antigenice, cu atît mai mult cu cît nu se pot deosebi morfologic celulele angajate de cele neangajate în sinteza de anticorpi.

Nonself-ul poate declanșa, fie *un răspuns imun*, fie apariția *toleranței*. Aceasta este *toleranța imunologică artificială*, definită ca o insuficiență centrală și specifică (tolerant pentru un antigen, dar poate răspunde la altul, ceea ce deosebește toleranța de areactivitate) a răspunsului imun apărut după expunerea la antigene (nu la anticorpi, ceea ce deosebește toleranța de deprimarea centrală a răspunsului imun indusă de administrarea pasivă de anticorpi specifici) (92).

Scanned with OKEN Scanner

Foarte numeroasele lucrări efectuate în întreaga lume pentru a descifra mecanismul toleranței artificiale și al toleranței în general, ca și bogăția de metode pentru a induce această toleranță, se explică prin dorința de a extinde tot mai mult aplicarea grefelor de țesuturi și organe în medicina clinică.

Inducerea unui răspuns imun sau a toleranței nu operează la nivelul moleculei antigenice, ci la nivelul *determinantului antigenic*, acea porțiune din antigen cu greutate moleculară de circa 1 000, capabilă să se combine cu un singur anticorp (60).

Alternativa răspuns imun — toleranță depinde de mai mulți factori, care țin de gazdă (vîrsta gazdei, capacitatea sistemului reticulo-histiocitar de a capta antigene, viteza de apariție a noi celule imunologic competente etc.) sau de antigenul însuși. Factorii care țin de antigen sînt: natura sa chimică (anumite antigene nu produc răspuns imun, ci toleranță, cum sînt anumite polizaharide bacteriene sau polimeri de *D*-aminoacizi), starea sa fizică (imunoglobulina *G* bovină sau umană sub formă de agregate moleculare duce la un răspuns imun, pe cînd sub formă monomerică produce toleranță chiar la animalul adult), doza antigenului (dozele „subimunogenice", de ordinul microgramelor, ca și dozele mari, „paralitice", provoacă toleranța sau paralizia chiar la adult, în timp ce dozele medii duc la un răspuns imun), calea de administrare (administrarea intravenoasă e urmată mai ușor de paralizie decît alte căi) (75; 60).

Nossal (citat de 75) și Mitchison (1967) încearcă să explice provocarea toleranței sau a răspunsului imun.

Toleranța ar rezulta din conflictul direct dintre celulele imunologic competente și antigenul liber în lichidele extravasculare: *a*) fie prin distrugerea celulelor imunologic competente în urma contactului cu antigenul (toleranța se instalează prin absența celulelor capabile să reacționeze la un anumit antigen), *b*) fie prin alterarea mecanismului de control genetic cu dezvoltarea unor celule tolerante.

Toleranța se termină cînd apar celule imunologic competente virgine și nu mai există antigen ca să le distrugă sau ca să le modifice controlul genetic. De asemenea, toleranța poate fi suprimată prin imunizare încrucișată (de exemplu, iepuri paralizați cu albumină serică bovină și apoi imunizați cu albumină serică umană).

Dimpotrivă, răspunsul imun survine cînd antigenul a fost în prealabil sechestrat de macrofage sau de celule reticulare dendritice, unde suferă un proces de prelucrare. S-a văzut că antigenul provenit din macrofage este de 1 000 de ori mai imunogenic decît antigenul liber. Astfel e împiedicat accesul liber al antigenului la celulele imunologic competente circulante. Numai după o tratare prealabilă a antigenului de către macrofage va ajunge el în contact cu celulele imunologic competente, ducînd la un răspuns imun anticorpic sau celular.

Se poate constata că, pentru a determina un răspuns imun, antigenul trebuie prezentat celulelor imunologic competente „prin canalele diplomatice proprii" (Medovar, citat de 75), adică pe calea macrofagelor, unde suferă o tratare prealabilă.

Scanned with OKEN Scanner

Paralizia sau toleranța rezultă din accesul direct al antigenului la celulele imunologic competente. Condiția este ca antigenul să nu imunizeze ceea ce se obține cu antigene slab imunogene deoarece sînt incomplet fagocitate sau cu antigene puternic imunogene la animalele nounăscute cu un sistem reticulo-histiocitar imatur care nu poate capta și prelucra eficace antigenul. Deci, modul de prezentare a antigenului la celulele imunologic competente pare să dicteze toleranța sau răspunsul imun.

Este posibil ca un stimul antigenic *nonself* să determine un dublu răspuns: majoritatea celulelor să fie antrenate spre toleranță (distrugere sau modificare), și doar cîteva să fie antrenate spre un răspuns imun. Astfel, toleranța ar putea fi un mecanism homeostatic care limitează numărul celulelor imunologic competente ce pot fi antrenate în răspunsul imun.

În concluzie, aparatul imunitar normal poate face o discriminare între *self* și *nonself,* operație realizată atît la nivel periferic, prin populația de macrofage, cît mai ales la nivel central, prin populația de celule imunologic competente, unitatea de recunoaștere propriu-zisă fiind reprezentată de limfocitul mic.

Grație acestei capacități de recunoaștere, în condiții normale, *self*-ul este protejat de agresiunea imunologică.

Actualmente, obiectivele imunologiei sînt reprezentate de dezvoltarea unor noi metode de inducere a toleranței artificiale pentru a efectua cu succes grefe de organe sau pentru a redobîndi toleranța pierdută în cazul bolilor autoimune.

Pornind de la ideea că în cursul evoluției ontogenetice — și anume în perioada embrionară și imediat după naștere — există o imaturitate a sistemului imun — răstimp în care are loc recunoașterea *self*-ului — s-a constatat că introducerea în cursul perioadei respective a unor antigene sau celule străine duce la dezvoltarea toleranței la aceste antigene *nonself.*

Astfel, *embrionul* sau *nou-născutul* pot dobîndi toleranța injectîndu-le antigenele la care dorim să inducem toleranța. Se obține o toleranță selectivă pentru aceste antigene, cu conservarea răspunsului imun pentru toate celelalte antigene.

De asemenea, pentru a obține toleranța la antigene de histocompatibilitate se inoculează embrionilor sau nou-născuților celule hematopoetice, îndeosebi celule limfatice provenind din splină și ganglionii limfatici sau celule medulare. Aceste celule conțin toate antigenele de histocompatibilitate, spre deosebire de timocite, care nu pot induce toleranța. Se obține toleranță la toate antigenele de histocompatibilitate conținute în celulele menționate, comune tuturor celorlalte structuri celulare ale donatorului (piele, rinichi, inimă, ficat etc.).

Celulele limfoide injectate embrionului populează organele sale limfatice, realizînd un himerism limfoid. Cînd embrionul sau nou-născutul astfel tratat devine adult, grefa de piele, de exemplu, provenind de la donatorul de celule limfoide, este recunoscută de celulele limfatice administrate în tinerețe și acceptată ca proprie. Injectînd însă acestui ani-

Scanned with OKEN Scanner

mal tolerant celule limfatice adulte străine, provenind din splină sau din ganglionii limfatici, gazda este reutilată cu celule imunologic competente netolerante, care determină respingerea grefei. Dacă aceste celule provin de la animale anterior sensibilizate la o aceeeaşi grefă, respingerea are loc cu şi mai mare viteză. Toleranţa rezultă deci de pe urma unui „eşec central" specific al celulelor imunologic competente.

Animalelor nou-născute, timectomia le conferă toleranţă imunologică; în final ele mor de un sindrom caşectizant *(wasting syndrome)* (72; 74).

Pentru clarificarea acestor mecanisme imunologice fundamentale, ca şi pentru importantele lor implicaţii în chirurgia transplantării, Medowac şi Burnet au primit în 1960 premiul Nobel.

Injectînd unei gazde — imature din punct de vedere imunologic — celule limfatice competente imunologic poate surveni drept complicaţie o boală de intensitate variabilă, de la caz la caz, manifestată prin oprire bruscă a dezvoltării, caşexie, diaree, dermatite, eriteme, instalare a unei anemii hemolitice şi, în cele din urmă, exitus. Aceste manifestări sînt uneori mai atenuate, şi animalul îşi revine complet în cîteva săptămîni sau luni.

Caşexia din *runt disease* (v. mai jos) seamănă cu caşexia după timectomie, sugerînd că împuţinarea limfocitelor joacă un rol important în ambele situaţii.

Aceste tulburări rezultă din agresiunea celulelor limfatice imunologic competente administrate împotriva gazdei sau, mai precis, împotriva antigenelor ei de histocompatibilitate. Ţinta principală a atacului o constituie ţesutul hematopoetic al gazdei. Are loc un fenomen similar cu respingerea grefei, de data aceasta gazda fiind reprezentată de celulele limfatice adulte inoculate, iar grefa fiind micul animal inoculat. E ceea ce se numeşte *reacţia grefei împotriva gazdei*, cunoscută şi sub numele de *runt disease* (dată fiind oprirea bruscă a dezvoltării), *sindromul de gnomizare* sau *boala alogenică acută*. Aceeaşi manifestare la animalul adult poartă numele de *boală homologă*. Histologic, iniţial apare hiperplazia, urmată de atrofia ganglionilor limfatici, a splinei, timusului şi de dispariţia organizării foliculare.

În dezvoltarea acestor tulburări, rolul celulelor limfatice imunologic competente este susţinut de cîteva fapte: gravitatea bolii depinde de numărul celulelor inoculate; boala nu e determinată de celule limfatice embrionare fără competenţă imunologică şi nici de celule genetic identice; boala e mai gravă dacă celulele limfatice au fost sensibilizate faţă de gazdă; numai celulele limfatice sînt capabile să inducă boala, nu şi cele mieloide (6).

Injectînd intradermic celule limfatice se poate produce o reacţie localizată a grefei împotriva gazdei, devenind posibilă selectarea celui mai tolerant animal la inoculul de celule limfatice, animal care va fi apt să dezvolte toleranţa „sistemică" de transplantare. Astfel nu mai e cu putinţă să apară reacţia grefei împotriva gazdei; ea mai poate fi prevenită folosind celule limfatice foarte tinere sau de la donatori genetic

Scanned with OKEN Scanner

identici, incompetente imunologic, dar purtătoare a tuturor antigenelor de histocompatibilitate, sau tratînd gazda cu droguri imunosupresive pentru a distruge celulele imunologic competente din inocul sau cu ser antilimfocitar. Reacția grefei împotriva gazdei prezintă un interes deosebit în studiul bolilor autoimune și al malignizării țesutului limfatic.

Pentru ca reacția grefei împotriva gazdei să poată fi utilizată ca model experimental al bolilor autoimune și maligne este esențial să se evite boala alogenică acută *(runt disease)*, prea distructivă și prea rapid fatală pentru a putea oferi condiții optime de urmărire.

Boala alogenică cronică oferă condiții experimentale ideale de apreciere a rolului celulelor imunologic competente în agresiunea față de *self*, realizînd o interacțiune mai blîndă și mai prelungită între celulele grefate și gazdă.

Folosind ca donator de celule imunologic competente un șoarece de rasă pură, iar ca primitor hibridul său F_1, se poate realiza o confruntare *in vivo* între două populații de celule limfatice genetic distincte, dintre care una imunologic competentă, iar cealaltă imunologic tolerantă. Acest sistem prezintă avantajul de a preveni respingerea celulelor grefate — fără a mai folosi iradierea cu raze X sau receptorii nou-născuți — prin faptul că hibrizii conțin deja toate antigenele de histocompatibilitate ale tulpinii parentale, fiind astfel în mod natural toleranți față de grefă, indiferent de vîrstă. Grefa celulară va reacționa totuși cu acele antigene ale hibridului F_1 derivate din celălalt părinte, cu dezvoltarea unui răspuns imunologic unidirecțional. Expresia acestor manifestări constă în apariți, la gazda F_1 — la 2—4 luni după ce au fost inoculate celule splenice parentale — a unor modificări în următoarea ordine: boală imunologic netă, hiperplazie importantă a țesutului limfoid cu apariția unor foliculi germinativi și conservare normală a timusului (în contrast cu atrofia din boala alogenică acută) și, în final, limfoame maligne (sarcoame reticulocelulare), foarte asemănătoare cu reticuloendoteliozele leucemice umane.

În studiul bolii alogenice cronice au fost folosite două sisteme donator-primitor.

În sistemul soarecilor $C_{57}B_1/6 \rightarrow (C_{57}B_1/6\ y\ X\ DBA/2\ y)F_1$, boala imunologică se manifestă sub forma unei anemii hemolitice autoimune, în care celulele limfoide donate reacționează imunologic cu antigenele din hibridul F_1 provenite din părintele $DBA/2\ y$.

În combinația experimentală $BALB/C \rightarrow (BALB)\ c\ X\ A/y)F_1$, suferința imunologică este o glomerulonefrită membranoasă cu toate caracteristicile unei boli prin complexe imune. Sursa imunoglobulinei anticorpice e încă necunoscută, dar se așteaptă rezolvarea problemei prin studii cu seruri antialotip. În privința antigenului se afirmă că ar fi un inframicrob (virusurile oncogenice fiind ubicuitare la șoareci), dar nu s-a precizat ce anume îi permite să provoace boala la acești șoareci. Nefritele induse prin imunocite „străine" constituie un model complet nou de studiu al bolilor renale.

Scanned with OKEN Scanner

S-a putut constata că terenul genetic al partenerilor care interacţionează (grefa de celule parentale↔ hibridul) poate modula natura bolii imunologice (95 *a*).

E mult mai dificil de provocat o toleranţă artificială unui *animal adult*. Ea se realizează prin mai multe metode: se injectează intravenos celule limfatice vii, fie în doză mare, dar unică, fie în doze mici şi repetate; sau se provoacă o paralizie imunologică injectînd intravenos, continuu, mari cantităţi de antigen; sau prin parabioză (se stabilesc legături sanguine între două animale diferite genetic, care devin tolerante unul pentru altul dacă supravieţuiesc conflictului imunologic); sau prin iradiere subletală cu raze X; ori folosind citotoxice, citostatice sau corticoizi, ser antilimfocitar, timectomia, drenajul limfatic etc.

În practica medicală, problema inducerii toleranţei se pune îndeosebi în legătură cu împiedicarea fenomenelor de respingere a homografelor sau pentru a suprima răspunsurile autoimune. Mijloacele folosite la om în aceste scopuri vor fi discutate pe larg în alt capitol. Deocamdată, în situaţiile de mai sus, metodele citate nu reuşesc să realizeze o toleranţă perfectă, ci doar să atenueze răspunsul imunologic celular sau anticorpic. Ele nu realizează deci o *imunosupresie,* ci mai degrabă o diminuare a răspunsului imun, adică o *imunodepresie*. De aceea, termenul de imunosupresie, astăzi larg folosit în publicaţiile de specialitate, va fi adoptat şi de noi cu această rezervă.

Este însă de aşteptat ca în următorii ani să apară noi mijloace, cu adevărat imunosupresive şi cu acţiuni mai selective.

Scanned with OKEN Scanner

3

SUPRIMAREA TOLERANȚEI IMUNOLOGICE

În condiţii normale, sistemul imunitar este capabil să deosebească antigenele proprii organismului (faţă de care dezvoltă toleranţă) de antigenele străine (împotriva cărora declanşează răspunsul imun), adică *self*-ul de *nonself*.

Răspunsul imun e îndreptat deci numai împotriva materialului antigenic străin.

Această capacitate de discriminare, denumită de Ehrlich şi Morgenroth (1900) *horror autotoxicus*, a fost acceptată de majoritatea imunologilor ca o axiomă biologică (43).

Însă, ca toate fenomenele fiziologice, toleranţa la *self* nu este absolută, ci vulnerabilă şi poate fi pierdută în condiţii patologice, cînd aparatul imun devine „confuz" (71).

Suprimarea discriminării dintre *self* şi *nonself* sau, cu alte cuvinte, pierderea toleranţei la *self* este esenţa autoimunităţii. Un răspuns autoimun trebuie deci definit ca un răspuns imunologic la antigene autologe. Totuşi, conceptul lui Ehrlich e corect, fenomenele autoimune fiind *excepţii*, care mai degrabă confirmă regula decît o infirmă.

De altfel, nici autorii termenului *horror autotoxicus* nu au negat posibilitatea formării autoanticorpilor, ci dimpotrivă, şi au discutat chiar mecanismele care ar putea proteja gazda de alterările induse prin autoanticorpi. De asemenea, ei au întrevăzut corect faptul că producerea autoanticorpilor nu trebuie neapărat şi totdeauna asociată cu o boală.

Anumiţi autoanticorpi se găsesc aproape universal, atît la om, cît şi la animalul de experienţă: anticorpi citotoxici faţă de ţesutul spermatic, titruri scăzute de imunoconglutinină, factori reumatoizi, anticorpi faţă de canalele sudoripare şi straturile bazale ale epidermului, aglutini-

Scanned with OKEN Scanner

nele *T*, aglutininele din fluidul veziculelor provocate de traumatizarea pielii umane etc. Ei sînt anticorpi din clasa imunoglobulinelor *M* (106). Numai autoanticorpii aparţinînd clasei imunoglobulinelor *G* ar avea un potenţial agresiv.

Nu există nici o dovadă despre acţiunea patogenă a acestor autoanticorpi „naturali". Ei ar putea juca un important rol fiziologic, „de curăţire" a unor antigene proprii alterate, a unor produse metabolice, a unor celule uzate sau chiar a unor celule mutante apărute din timp în timp în cursul procesului de reînnoire continuă.

Actualmente se ştie că factorul reumatoid este un autoanticorp împotriva noilor determinanţi antigenici de pe molecula de imunoglobulină, „demascaţi" de unirea ei cu antigenul. Factorul reumatoid apare totdeauna împotriva unei imunoglobuline anticorpice fixate în complexul imun, nu şi împotriva uneia libere, nefixate. Niciodată nu a fost demonstrat categoric vreun rol patogen al factorului reumatoid. Dimpotrivă, legarea sa de porţiunea anticorpică a complexelor imune ar putea duce la eliminarea lor mai eficientă din circulaţie, probabil prin fagocitare. De asemenea, factorul reumatoid apărut la unii primitori umani de homografe renale ar putea fi pus în legătură cu reacţia dintre grefă şi anticorpii de transplantare tip imunoglobuline *G*.

S-a demonstrat recent că factorul reumatoid este legat de grefă prin imunoglobulinele *G* anticorpice. Competiţionînd cu complementul pentru legarea imunoglobulinelor *G*, factorul reumatoid poate preveni efectul citotoxic al complementului (71).

Imunoconglutininele sînt autoanticorpi îndreptaţi împotriva complementului fixat pe complexele imune (nu şi împotriva celui liber), alterat de această fixare sau care îşi demască noi determinanţi antigenici. Şi aici rolul autoanticorpilor ar fi util, facilitînd un *clearance* mai rapid al complexelor imune, deci şi al antigenului agresiv (23; 62).

Ca alte exemple menţionăm aglutininele *T*, prezente la majoritatea adulţilor. Ele au proprietatea de a aglutina toate probele de eritrocite umane expuse la enzime bacteriene, fiind îndreptate probabil împotriva unui antigen aflat profund sau pe suprafaţa membranei celulare; de asemenea, aglutininele demonstrate la om în lichidul veziculelor provocate prin traumatizarea pielii şi care se combină între 0 şi 37°C cu eritrocitele tuturor fiinţelor umane (71).

Autoanticorpi care reacţionează specific cu un antigen miocardic au fost găsiţi în serul mai multor pacienţi cu infarct miocardic sau care suferiseră intervenţii pe cord, iar autoanticorpi antinucleari au fost demonstraţi după infarcte pulmonare (43).

Există deci autoanticorpi fără rol patogenic, nu neapărat asociaţi cu suferinţă clinică. Ei pot fi şi mărturia unui proces imunologic mediat de celule, în anumite circumstanţe fiind deci rezultatul, şi nu cauza bolilor.

Mecanismele prin care poate fi suprimată toleranţa la antigene autologe depind, pe de o parte, de antigen, iar pe de alta, de celulele imunologic competente (tabelul I).

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL I

Mecanismele prin care poate fi suprimată toleranţa imunologică

I. *Antigene proprii la care toleranţa n-a fost stabilită*
   a) sechestrare anatomică;
   b) sechestrare biochimică;
   c) dezvoltare tardivă a antigenului;
   d) potenţial autoantigenic al secreţiilor glandulare care se varsă în tubul digestiv.

II. *Antigene proprii la care toleranţa a fost stabilită*
   a) determinanţi antigenici ai gazdei comuni cu antigenele microbiene;
   b) alterarea antigenelor autologe prin enzime bacteriene;
   c) modificarea structurilor antigenice proprii prin agenţi virali;
   d) realizarea unui antigen complex (proteină autologă — haptenă);
   e) modificări întîmplătoare sau induse în dezasamblarea antigenelor autologe;
   f) apariţia unei mutaţii somatice;
   g) modificarea antigenelor prin agenţi fizici;
   h) posibilităţi teoretice.

III. *Modificări la nivelul celulelor imunologic competente*

IV. *Utilitatea adjuvanţilor pentru suprimarea toleranţei*

Ca să analizăm rolul jucat de antigene în suprimarea toleranţei trebuie făcută o distincţie între antigenele proprii la care toleranţa n-a fost stabilită, şi cele la care toleranţa a fost stabilită (60).

Antigenele proprii la care toleranţa n-a fost stabilită sînt cele care nu au avut acces la celulele imunologic competente ale gazdei, nici în perioada critică embrionară, şi nici imediat după naştere. Acestea sînt „antigenele inaccesibile“ sau „*self*-ul sechestrat“. Ele n-au stabilit niciodată un contact direct cu aparatul imun, fiind deci practic tratate de acesta ca *nonself*. Sechestrarea se realizează prin mecanisme multiple.

a) Sechestrarea anatomică. Locul cel mai obişnuit al sechestrării anatomice e reprezentat fără îndoială de antigenele intracelulare. Dacă pentru antigenele de histocompatibilitate ale peretelui celular există cu siguranţă toleranţă, pentru antigenele subcelulare, dovezile o infirmă deocamdată (107). Problema toleranţei la componenţii intracelulari normali este complexă şi poate să depindă de cantitatea antigenelor intracelulare care trec în circulaţie la moartea celulei. Imunogenitatea lor e atestată de autoanticorpii antimiocard apăruţi după intervenţii pe cord sau după un infarct miocardic, de autoanticorpii antinucleari după un infarct pulmonar sau de autoanticorpii antificat după administrarea tetraclorurii de carbon. Efectul lor nociv nu a fost însă precizat. Dintre antigenele sechestrate anatomic menţionăm tireoglobulina, antigenele sistemului nervos central şi periferic, ale cristalinului, suprarenalei, ţesutului uveal.

b) Sechestrarea biochimică. În urma interacţiunii *in vivo* cu alte molecule, pe o moleculă pot apărea noi determinanţi antigenici, ascunşi în molecula nativă. Această sechestrare biochimică se realizează probabil prin plierea lanţurilor polipeptidice ale moleculei, astfel încît grupe de determinanţi antigenici sînt acoperite de alţi determinanţi cu o situaţie

Scanned with OKEN Scanner

superficială. Reorganizarea spațială, din cauze foarte diverse, a lanțurilor polipeptidice ale unei molecule poate duce la „demascarea" acestor antigene.

Este situația deja menționată pentru imunoconglutinine, care se comportă ca autoanticorpi pentru complementul fixat pe complexele imune (deci cu determinanți antigenici „demascați"), nu însă și pentru cel liber, nativ, sau a factorilor reumatoizi care se comportă ca autoanticorpi pentru imunoglobulina anticorpică fixată în complexul imun, nu și pentru cea liberă. Nu este exclus ca și haptenele să acționeze printr-un mecanism asemănător.

Cînd autoanticorpii sechestrați anatomic sau biochimic dobîndesc acces la celulele imunologic competente apar autoanticorpii. Cantitatea de autoantigen care trece în circulație reprezintă factorul hotărîtor pentru producerea unui răspuns imun autoanticorpic sau a toleranței. În acest sens e interesant de semnalat că, la majoritatea pacienților operați pe tiroidă, tireoglobulina a putut fi demonstrată în circulație una pînă la două zile după operație, însă numai la foarte puțini au fost decelați autoanticorpi.

Atît în cazul sechestrării anatomice, cît și al celei biochimice se pot aduce obiecții serioase de ordin semantic. Și într-un caz și în altul e vorba în fond de antigene conținute în organismul gazdei, dar străine din punctul de vedere al toleranței, astfel încît anticorpii induși de aceste antigene pot fi interpretați ca anticorpi obișnuiți, nu autoanticorpi. Deoarece apariția lor e un fenomen legat de țesuturile proprii organismului normal, se poate accepta termenul de autoanticorpi (71).

c) *Dezvoltarea tardivă a antigenului,* ca în cazul spermatozoizilor, după perioada critică cu durată strict limitată în care se realizează toleranța la *self*, e un alt mod de „ocolire" a toleranței.

În sîngele pacienților sterili pot fi demonstrați autoanticorpi împotriva spermatozoizilor, dovedind absența toleranței la aceste antigene. Animalele au în mod normal autoanticorpi citotoxici îndreptați împotriva țesutului spermatic propriu, dar, cîtă vreme membrana bazală e intactă, autoanticorpul și complementul nu au acces la țesut, și instalarea leziunilor e împiedicată. Leziunile autoimune pot apărea numai cînd membrana bazală a fost ruptă. Este un tip particular de sechestrare anatomică, datorit protecției exercitate de membrana bazală. În acest tip, autoantigenul are acces la celula imunologic competentă, dar autoanticorpul și complementul nu au acces la autoantigen.

d) *Potențialul autoantigenic al secrețiilor glandulare care se varsă în tubul digestiv.* Se poate presupune că numeroșii constituenți antigenici prezenți în secrețiile glandulare externe nu au intrat niciodată în legătură cu sistemul imun. Toleranța la aceste antigene nu a fost stabilită, astfel că ele se comportă ca antigene străine. E probabil cazul secreției glandulare exocrine, pancreatice, a glandelor sublinguale și al tuturor secrețiilor parietale ale tubului digestiv. Chiar dacă pentru unele secreții s-a stabilit un contact inițial al antigenului cu sistemul imun — în cursul perioadei embrionare sau imediat după naștere, grație permeabilității deosebite a tubului digestiv la nou-născut —, nu știm deocamdată

Scanned with OKEN Scanner

în ce măsură s-a realizat pe această cale o toleranţă propriu-zisă, cît este ea de eficientă şi cît timp persistă. Motivul îl constituie impermeabilitatea tubului digestiv adult la moleculele proteice nedezasamblate, ceea ce nu oferă condiţii unui contact continuu al structurilor antigenice (exocrine) cu aparatul imun.

Această optică radical nouă asupra potenţialului autoantigenic al secreţiilor glandulare externe a fost prezentată de N. Şt. Chişiu în legătură cu *secreţia biliară*, autorul citat demonstrînd că epiteliul biliar sintetizează o serie de substanţe antigenice destinate exclusiv secreţiei externe, atît la iepure (16, 17, 21), cît şi la om (13, 14) şi maimuţă (19).

Graţie potenţialului lor autoantigenic, antigenele biliare ajunse în circulaţia sanguină pe cale biliară („injectare" biliară ascendentă) sau digestivă (transparietal) vor iniţia răspunsul imun celular (celulele imunologic competente angajate) şi umoral (autoanticorpii) a cărui ţintă este epiteliul biliar (15, 18, 22). Manifestările hepatice din cursul icterului nutriţional experimental (steatoză, colestază, icter, ciroză, proliferare neoductulară în spaţiile porte, vacuolizări şi necroze ale epiteliului biliar, infiltraţie celulară în spaţiile porte) sînt, măcar în parte, expresia agresiunii de tip autoimun asupra ficatului.

Antigene la care toleranţa a fost stabilită. În acest caz e vorba de *self*-ul propriu-zis. Pierderea toleranţei se realizează în această situaţie prin mai multe mecanisme:

a) *Determinanţi antigenici ai gazdei, comuni cu antigene microbiene* care condiţionează dezvoltarea unor reacţii imunologice încrucişate.

Este astăzi bine stabilit că streptococul hemolitic din grupul *A*, *E. coli* 014, *Treponema pallidum* posedă o varietate de determinanţi antigenici comuni cu aceia ai animalelor superioare, inclusiv cu ai omului. De asemenea, determinanţi antigenici similari celor din sistemul de grupe sanguine umane *ABO* au fost găsiţi la un mare număr de bacterii Gram-negative.

Tulpinile de streptococi β-hemolitici aparţinînd grupului *A* (agentul etiologic al reumatismului Bouillaud-Sokolski) conţin în membrana celulei bacteriene, aşa cum a demonstrat Kaplan, determinanţi antigenici proteici comuni cu aceia ai sarcolemei miocardului. Bolnavii dezvoltă atît anticorpi împotriva determinanţilor antigenici de pe celula bacteriană, cît şi împotriva celor situaţi pe sarcolema cordului, fenomen demonstrat prin imunofluorescenţă. Se obţine aceeaşi coloraţie imunofluorescentă a miocardului folosind drept sursă de anticorpi un ser imun de iepure faţă de acelaşi tip de streptococ.

Pentru tipul 12 de streptococ s-a demonstrat existenţa unor determinanţi antigenici de natură glicoproteică comuni cu membrana bazală glomerulară.

În muşchiul scheletic, în ficatul, inima şi rinichiul de cobai au fost puse în evidenţă antigene solubile care dau reacţii încrucişate cu un ser imun preparat pe iepure faţă de streptococii din grupul *A*, tipurile 1, 5 şi 29 (65).

Un alt exemplu este acela al colitei ulceroase. S-a demonstrat existenţa unui determinant antigenic de tip polizaharidic comun atît mu-

Scanned with OKEN Scanner

coasei colonului steril, cît și majorității enterobacteriaceelor. El este mai abundent reprezentat sau mai imunogen în tulpina 014 de *E. coli*. Antigenul de colon și cele bacteriene reacționează încrucișat la imunofluorescența cu seruri provenind de la bolnavi cu colită ulceroasă sau cu ser de iepure imunizat cu *E. coli* 014.

Deoarece *E. coli* este prezentă în intestinul uman, se poate presupune că anticorpii anticolon din colita ulceroasă sînt rezultatul stimulării prin antigene bacteriene, dar că reacționează încrucișat cu antigenul polizaharidic. Accesul bacteriilor la aparatul imun e realizat prin ruperea barierei epiteliale intestinale, astfel încît anticorpii ar perpetua — nu ar iniția — leziunile primitive ale peretelui. Faptul că nu toți indivizii dezvoltă anticorpi anticolon poate fi explicat și printr-un defect de natură genetică al sistemului imun (87).

În aceste exemple rămîne totuși neînțeles răspunsul imun al gazdei față de determinanții antigenici comuni, pentru care în mod normal există toleranță. De altfel, unele date dovedesc că în acest caz protecția imună a gazdei ar putea fi mai puțin eficientă, deși în rezistența la infecții participă factori multipli.

Pentru a explica reacțiile imunologice încrucișate trebuie admis că toleranța se stabilește la molecula întreagă, nu la determinanții antigenici.

Molecula dată e fundamental diferită de antigenele proprii și are cu acestea doar unul sau cîțiva determinanți antigenici comuni. În timpul răspunsului imun, celula imunologic competentă produce anticorpi cu specificitate pentru fiecare determinant antigenic în parte. În această accepție, *toleranța* se stabilește la întreaga moleculă, pe cînd *specificitatea* răspunsului imun, pentru fiecare determinant antigenic în parte (44). Nu trebuie pierdută însă din vedere posibilitatea ca determinantul antigenic comun al gazdei să fie de fapt un antigen sechestrat la care toleranța nu a fost niciodată stabilită.

Existența determinanților antigenici comuni explică de ce pot apărea la animalele de experiență leziuni autoimune și autoanticorpi folosind extracte de organe heterologe în adjuvant Freund.

b) Alterarea antigenelor autologe prin enzime bacteriene a fost sugerată pentru antigenele polizaharidice de colon (87). Sub acțiunea enzimelor existente, în anumite tulpini de *Clostridium*, și anume în *Clostridium difficile*, polizaharidele de colon devin imunogene pentru gazdă.

Astfel, șobolanii *germ-free* monoinfectați cu *Cl. difficile* dezvoltă anticorpi la germen și cel puțin o treime din ei autoanticorpi la polizaharidul de colon, spre deosebire de animalele monoinfectate cu alte bacterii sau cu o floră convențională. Mucoasa colonului este colorată fluorescent, atît cu acești autoanticorpi, cît și cu ser imun anticolon de iepure preparat pe șobolan.

Atît autoanticorpii de șobolan, cît și cei ai bolnavilor cu colită ulceroasă reacționează cu un același extract de colon obținut de la șobolanii *germ-free*.

Scanned with OKEN Scanner

În timp ce autoanticorpii provenind de la bolnav şi serul imun de şobolan anticolon de iepure reacţionează încrucişat cu *E. coli* 014, cei proveniţi de la şobolanii infectaţi cu *Clostridium* nu dau această reacţie.

Datele citate exclud o reacţie încrucişată prin determinanţi antigenici comuni şi sugerează dezvoltarea unui mecanism autoimun strict dependent de *Clostridium difficile*. Însă, pentru clinica umană, valoarea patogenică a acestui mecanism posibil nu a fost demonstrată.

c) *Modificarea structurilor antigenice proprii prin agenţi virali.* Întrucît în ţesuturile şoarecilor *NZB* şi *SJL/j* au fost decelate la microscopul electronic particule foarte asemănătoare virusului leucemiei murine, s-a presupus că ar fi implicate în alterările imunologice (inclusiv cele autoimune) şi neoplazice constatate la aceste animale. Particule similare au fost depistate însă şi la şoarecii normali.

Fiind prezente şi în ţesuturile embrionare, s-ar putea instala o toleranţă la aceste particule, ceea ce ar constitui un factor favorizant al dezvoltării infecţiei virale la tulpina respectivă de şoareci.

Alterarea antigenelor autologe cu apariţia unor noi antigene pe suprafaţa celulelor reprezintă doar unul din mecanismele posibile de acţiune. Este tocmai situaţia anemiei hemolitice cu test Coombs pozitiv apărută la şoarecele *NZB*, anticorpul fiind de tip imunoglobulină G_1. Modalitatea de alterare a celulei e neclară, totuşi dovezile prezentate referitor la „înmugurirea" virusurilor de la suprafaţa celulelor limfoide, pancreatice, hepatice, pulmonare, la şoarecele *NZB*, ne oferă o interesantă interpretare morfologică a apariţiei unor noi antigene prin infecţii virale (31).

Modificarea celulelor imunologic competente ale gazdei sub influenţa virusurilor, cu pierderea parţială a capacităţii de discriminare între *self* şi *nonself*, este o altă posibilitate de acţiune a virusurilor în suprimarea toleranţei.

În fine, graţie unor determinanţi antigenici comuni, reactivitatea încrucişată cu antigene autologe ar putea fi un alt mecanism de acţiune, constituind explicaţia anticorpilor heterofili din mononucleoza infecţioasă care aglutinează hematiile de berbec.

Anemiile hemolitice observate în cursul hepatitei epidemice sau al pneumoniilor virotice pot apărea prin unul din aceste mecanisme.

d) *Realizarea unui antigen complex alcătuit dintr-o proteină a gazdei şi o haptenă.* Prin haptene înţelegem numeroase substanţe chimice sau metaboliţii lor endogeni folosiţi în terapeutică, industrie, cosmetică etc., cu greutate moleculară mică şi deci neantigenici, dar avînd capacitatea să se combine cu proteinele gazdei prin legături de hidrogen sau covalente pentru a forma un antigen complex care este imunogenic. Haptena datorează antigenitatea *carrier*-ului proteic; ea se poate combina specific cu anticorpul format.

Deoarece un asemenea complex nu e antigenic la un animal tolerant la *carrier*-ul proteic, înseamnă că legarea haptenei de substratul proteic a determinat pierderea sau modificarea acelor structuri din moleculă prin intermediul cărora era recunoscută ca *self*. Modificarea indusă în

Scanned with OKEN Scanner

carrier-ul proteinei ar putea consta din demascarea unui determinant antigenic propriu pentru care toleranţa nu a fost realizată.

Teoretic, haptena se poate lega de orice ţesut, celulă sau proteină serică circulantă sau tisulară.

Este clasic exemplul purpurii trombocitopenice, indusă de un drog hipnotic, *sedormid*, care apare doar la unii din cei trataţi cu acest medicament. Mecanismul de acţiune a drogului este de tip haptenic şi a fost explicat de Ackroyd în 1949: substanţa se combină cu plachetele, pe care le modifică antigenic, apărînd un nou antigen complex care induce formarea de anticorpi; un nou contact cu drogul produce un răspuns anticorpic foarte rapid, iar anticorpii formaţi aglutinează trombocitele, care sînt captate de sistemul reticulo-histiocitar şi lizate de complement.

Aceşti anticorpi conţinuţi în serul subiectului nu afectează trombocitele normale.

Dacă drogul se fixează pe pereţii vasculari, agresiunea va duce la rupturi vasculare, deci la purpură.

De atunci, efecte asemănătoare au putut fi demonstrate pentru un mare număr de substanţe. Ele acţionează asupra trombocitelor (chinina, chinidina, antipirina, clorpropamida, clorotiazida, clorpromazina, acetazolamida, gantrisinul, novobiocina etc.), asupra leucocitelor (piramidonul), sau asupra hematiilor (α-metildopa). După o cură de 18 săptămîni pînă la 3—6 luni, hipertensivii trataţi cu α-metildopa prezentau teste Coombs direct pozitive sau chiar anemii hemolitice. Aceste observaţii au dus la cercetarea mecanismului prin care acţionează substanţa.

A fost infirmată ideea unei reacţii imunologice încrucişate între drog şi globulul roşu.

E interesant că autoanticorpii liberi sau eluaţi de pe hematie prezintă o oarecare specificitate pentru eritrocitele Rh pozitive. Apariţia autoanticorpilor este explicată prin faptul că drogul sau unul din metaboliţii săi alterează ori modifică antigenele autologe de pe hematie (poate preferenţial antigenul *Rhesus*) şi/sau de pe alte ţesuturi (112).

Din experienţele pe iepure rezultă o altă explicaţie. Imunoglobulina G serică este cea care suferă o modificare sub acţiunea medicamentului. Sub noua formă se adsoarbe pe hematie în cantităţi mult mai mari decît în mod normal, proces facilitat şi de faptul că drogul alterează membrana globulului roşu. Această adsorbţie este suficientă pentru un test Coombs direct pozitiv. Antigenul complex apărut stimulează producerea de autoanticorpi; la un titru mare, autoanticorpii nu pot depăşi barajul imunoglobulinelor G circulante — cu care reacţionează încrucişat — şi se fixează pe hematie. Aici, împreună cu complementul, se produce hemoliza (104).

E deosebit de interesant că la aceşti pacienţi care primeau α-metildopa se constată şi alţi autoanticorpi (factorul antinuclear, factorul reumatoid, autoanticorpi la mucoasa gastrică), decelaţi într-o proporţie semnificativ mai mare decît la martori. După sistarea tratamentului, testul antiglobulinic se negativează în o lună — doi ani, iar ceilalţi autoanticorpi dispar în cinci—şase luni (112).

Scanned with OKEN Scanner

Faptul că apar și alți autoanticorpi demonstrează profunda dezordine imunologică determinată de administrarea unor substanțe chimice în scop terapeutic și sugerează că utilizarea a diverse droguri în repetate rînduri poate reprezenta cel puțin un factor în etiologia afecțiunilor autoimune de cauză neprecizată.

Prin acest mecanism haptenic, medicamentele — ca de altfel și substanțele chimice în general — pot acționa, fie producînd manifestări alergice, fie declanșînd un cerc vicios autoagresiv. Prin urmare, administrarea drogurilor, uneori insuficient de judicioasă, prezintă și riscul creării unor mecanisme patogene autoimune cu urmări imprevizibile (de exemplu, hidralazina și modificările similare lupusului).

e) Modificări întîmplătoare sau induse în dezasamblarea antigenelor autologe. În cursul proceselor normale de remaniere, majoritatea antigenelor proprii se scindează stereotip, ducînd la aceleași produse de fragmentare la care toleranța e de asemenea stabilită. În anumite situații, antigenul se poate scinda într-un mod neobișnuit. Prin ruperea legăturii peptidice într-un alt punct apar produse de fragmentare la care animalul nu e tolerant. Particularitățile fiecărui individ în ce privește degradarea enzimatică a antigenelor proprii, care pot varia și de la un moment la altul, ar explica eventual de ce numai anumite persoane sînt susceptibile să dezvolte răspunsul imun. Infecțiile virale, bacteriene și foarte probabil adjuvantul Freund ar putea acționa asupra antigenelor proprii prin acest mecanism (44).

f) O mutație somatică poate să apară în cursul procesului de continuă reînnoire a celulelor, dezvoltîndu-se întîmplător, din cînd în cînd, un antigen nou care nu mai e recunoscut ca *self* (66; 11).

g) Factorii fizici pot produce de asemenea modificări în structurile antigenice proprii: frigul, căldura, ultrasunetele, radiațiile ionizante, modificările de pH (43).

h) Alte modalități teoretice de suprimare a toleranței. E posibil ca pierderea temporară a unui antigen autolog să ducă la suprimarea toleranței respective: se știe că pentru menținerea ei e necesar ca antigenul să păstreze contactul cu celulele imunologic competente.

De asemenea, formarea unui nou antigen prin încorporarea unui metabolit anormal ar putea duce la apariția unui antigen cu configurație moleculară discret modificată față de proteina nativă și cu potențial autoantigenic.

Studiul hemoglobinelor anormale oferă un exemplu interesant în această privință.

În fine se mai citează posibilitatea sintezei enzimatice a unor polimeri nenaturali cu o structură discret modificată pentru a nu mai fi recunoscuți ca proprii. Așa cum s-a menționat, suprimarea toleranței poate fi realizată și prin *modificări la nivelul celulelor imunologic competente.*

Frecventele manifestări autoimune la pacienții cu neoplazii ale țesuturilor limfatice au dus la ideea unor mutații celulare în cadrul procesului natural de reînnoire a celulelor imunologic competente. Astfel ar putea să apară celule care au pierdut toleranța la unul sau mai multe

Scanned with OKEN Scanner

antigene autologe și deci capabile să dezvolte răspunsuri imune la aceste antigene. Se poate presupune că noile celule apar grație distrugerii mecanismului homeostatic care controlează mutațiile celulare nedorite. Ele au fost etichetate drept „clone interzise" (66; 11). În inducerea acestor transformări se discută astăzi și rolul drogurilor, al metaboliților lor, al virusurilor și germenilor microbieni. Se poate considera că pacienții respectivi prezintă fenomenul de himerism limfoid. Ei au celule cu două genotipuri distincte, unul normal, și altul mutant, patologic. Celulele mutante pot fi considerate drept grefă, iar restul țesuturilor drept gazde, asimilînd manifestarea autoimună cu reacția grefei împotriva gazdei. Drogurile și metaboliții lor, virusurile și poate chiar bacteriile ar putea acționa asupra celulelor imunologic competente, ducînd la apariția unor clone celulare anormale. Această anomalie depinde de persistența agenților inductori, nu are caracter autoperpetuat și dispare de obicei la suprimarea acțiunii lor.

Manifestările autoimune pot apărea însă și în cadrul unui aparat imun perfect normal, dar cu o înalt discriminativă capacitate de recunoaștere a antigenelor autologe (43).

Este posibil ca celulele imunologic competente să prezinte diferențe individuale în capacitatea de a „sesiza" variații mici în modelul antigenelor autologe.

Gradul de toleranță variază probabil de la individ la individ, și chiar la același individ, în momente diferite.

Un mecanism imun înalt discriminativ poate eticheta drept „străină" o modificare moleculară discretă, în timp ce altul, de la un alt individ, mai puțin discriminativ, să nu dea un răspuns imun la aceste diferențe minore. Există cu siguranță un anumit grad de variație admis pentru fiecare moleculă în parte. Depășirea limitei admise ar putea duce la declanșarea răspunsului imun. Aceasta explică susceptibilitatea anumitor indivizi sau familii la suferințele autoimune. Apariția unor imunoconglutinine sau a unor factori reumatoizi este rezultatul acestor minime modificări moleculare generate de conflictul antigen-anticorp.

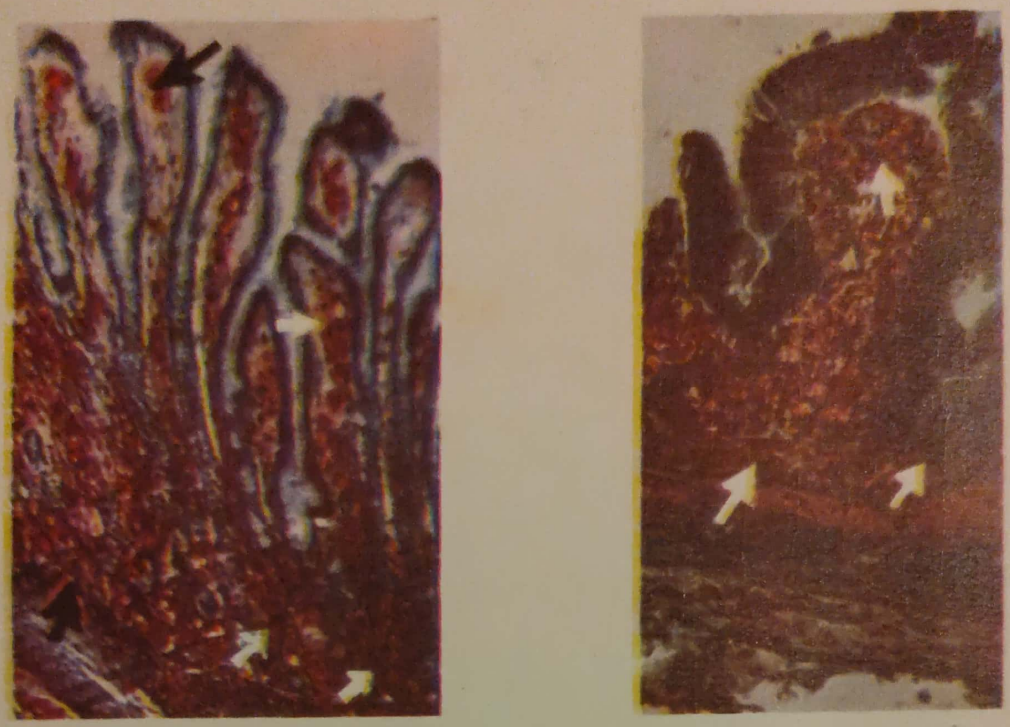
Desigur că există multe alte modalități, și mai subtile, de „ocolire" a toleranței, pe care deocamdată le ignorăm. Lista lor rămîne deschisă.

I n f l u e n ț a a d j u v a n ț i l o r. Adjuvanții sînt agenți care măresc răspunsul imun printr-un mecanism încă neclar, dar ținînd măcar în parte de inducerea unei proliferări a celulelor imunologic competente, locale și sistemice, și de întîrzierea absorbirii și excretării antigenului.

Adjuvanții pot transforma substanțele aparent neantigenice în antigene efective. Astfel, analiza imunochimică se poate extinde și asupra substanțelor incapabile să inducă singure formarea anticorpilor, sau asupra celor slab antigenice. Cei mai folosiți sînt gelul de hidroxid de aluminiu și adjuvantul Freund. În ultimul, ingredientul activ e reprezentat de cerurile din micobacterii, și anume fracțiunea *D* din ceara bacililor tuberculoși de tip uman (37).

Adjuvantul Freund s-a dovedit activ nu numai referitor la intensificarea răspunsului anticorpic, dar, în anumite situații, facilitează suprimarea toleranței la antigenele administrate cu el. Astfel, encefalita,

Scanned with OKEN Scanner



a b

Fig. 1. La iepure, regimul alimentar suplimentat cu colesterol face ca populația de macrofage (lipospongiocite) să sporească foarte mult, încărcînd axul conjunctivo-vascular al mucoasei gastrice (*a*), corionul veziculei biliare (*b*), plămînul și alte mucoase (săgețile) (16).

a b c

Fig. 2. Celulele „rotunde" populează ochiurile unui burete din material plastic (în figură, *Sp* – nodul rețelei de material plastic) implantat sub piele la șobolanul (Wistar) normal și evoluează spre fibroblast, fibroblast, fibrocit, constituind un țesut de tip cicatriceal (*a*).

Există o fază scurtă în care celulele rotunde se colorează cu Scharlach. Încărcînd ochiurile buretelui cu cristale de colesterol înainte de implantarea subcutanată la șobolan, celulele rotunde rămîn multă vreme în faza de lipospongiocite (macrofage) (*b*). Un implant de burete la iepure prezintă același tip celular macrofagic sudanofil (*c*) (16).

Scanned with OKEN Scanner

suprarenalita, tiroidita și orhita autoimună experimentală au fost realizate aproape fără excepție cu ajutorul adjuvantului Freund. În lipsa lui, aceste leziuni autoimune nu se produc sau necesită o imunizare extrem de prelungită.

Deosebit de interesantă e o constatare făcută pe iepure, și anume că răspunsul imun, chiar la antigene autologe (de exemplu, antigene biliare) poate fi intensificat sau dezvoltat de animalele hrănite cu un regim suplimentat cu colesterol (20). Autorul atribuie colesterolului din dietă un rol de adjuvant în accentuarea condiției imunoreactive a organismului. În sprijinul acestei ipoteze aduce următoarele argumente:

a) posibilitatea de a obține anticorpi la bilă homologă pe iepurii supuși unui regim colesterolic timp de două-trei săptămîni;

b) regimul colesterolic determină o mare acumulare de macrofage în corionul mucoaselor, dar și la alte niveluri; or, se știe că macrofagele sînt direct implicate în procesul de imunizare activă (fig. 1 *a*, *b*).

Este semnificativ că tocmai acești iepuri prezentau o tulburare a absorbției intestinale, în sensul că prin mucoasa digestivă puteau trece în circulație molecule proteice nemodificate antigenic sau proteine specifice biliare;

c) relația dintre acumularea macrofagelor și colesterol a demonstrat-o implantînd subcutanat, la șobolan și iepure, un burete din material plastic. La șobolan, aceste implante evoluează relativ repede spre un țesut conjunctiv dens (fig. 2 *a*). Dacă buretele a fost însă impregnat cu cristale de colesterol înainte de implantare, populația celulelor care îl „organizează" e formată predominant din macrofage similare celor din corionul mucoaselor provenind de la iepuri supuși unui regim colesterolic (fig. 2 *b*, *c*) (16).

Acțiunea de tip adjuvant a regimului colesterolic în modificarea stării imunoreactive a organismului a fost confirmată ulterior (40).

Aceste date deschid noi perspective interpretării regimurilor antiaterogene în clinică, discutînd de pildă măsura în care ar determina hipercolesterolemiile efecte similare celor experimentale.

Scanned with OKEN Scanner

4

RĂSPUNSUL IMUN

Pentru tratamentul raţional al reacţiilor imune nedorite (manifestări autoimune sau respingere a homografelor) trebuie cunoscute — în termenii datelor actuale — etapele răspunsului imun şi deci punctele de atac ale diverselor mijloace terapeutice aflate la dispoziţia noastră.

Prin *răspuns imun* înţelegem integrarea în timp şi spaţiu a numeroase evenimente complexe care pot fi împărţite arbitrar în trei grupuri: *a*) calea aferentă, reprezentată de mişcarea, distribuţia, catabolismul şi soarta antigenului, rolul anumitor celule în captarea antigenului şi mecanismul prin care antigenul stimulează celulele imunologic competente; *b*) componentul central, constituit din populaţia de celule imunologic competente; *c*) calea eferentă, reprezentată de celulele imunologic competente angajate în răspunsul imun şi de anticorpii umorali, ca şi de efectul inhibitor al diferiţilor factori asupra căii aferente şi componentului central (75). Acestea sînt elementele *reflexului imunologic* (fig. 3).

Pătrunderea unui antigen recunoscut ca *străin* declanşează un şir de reacţii care duc la un răspuns anticorpic umoral şi/sau celular. Nu există nici o diferenţă esenţială între răspunsul imun la un antigen străin şi cel la autoantigen. Elaborarea autoanticorpilor sau a *celulelor sensibilizate* ca răspuns la un stimul autoantigenic nu este decît un aspect particular al răspunsului imun.

Dezvoltarea cu precădere a unui *răspuns imun umoral* sau *celular* depinde de mai mulţi factori: natura şi starea fizică a antigenului, doza şi modul în care a fost prezentat, specia şi vîrsta gazdei.

Etapele răspunsului imun sînt prezentate în tabelul II şi schema din fig. 4.

Scanned with OKEN Scanner

Etapele răspunsului autoimun TABELUL II

1. Captarea antigenului de către macrofage
2. Transferul informației antigenice la limfocitele mici
3. Dediferențierea limfocitelor mici
4. Diferențierea imunoblaștilor spre plasmocite și/sau limfocite mici angajate imunologic:
   a) răspuns anticorpic (primar, secundar);
   b) răspuns celular
5. Mecanismele efectoare ale conflictului imunologic:
   a) prin anticorpi (anafilaxia, citotoxicitatea, complexele imune);
   b) prin celule angajate imunologic (limfocite mici sensibilizate)

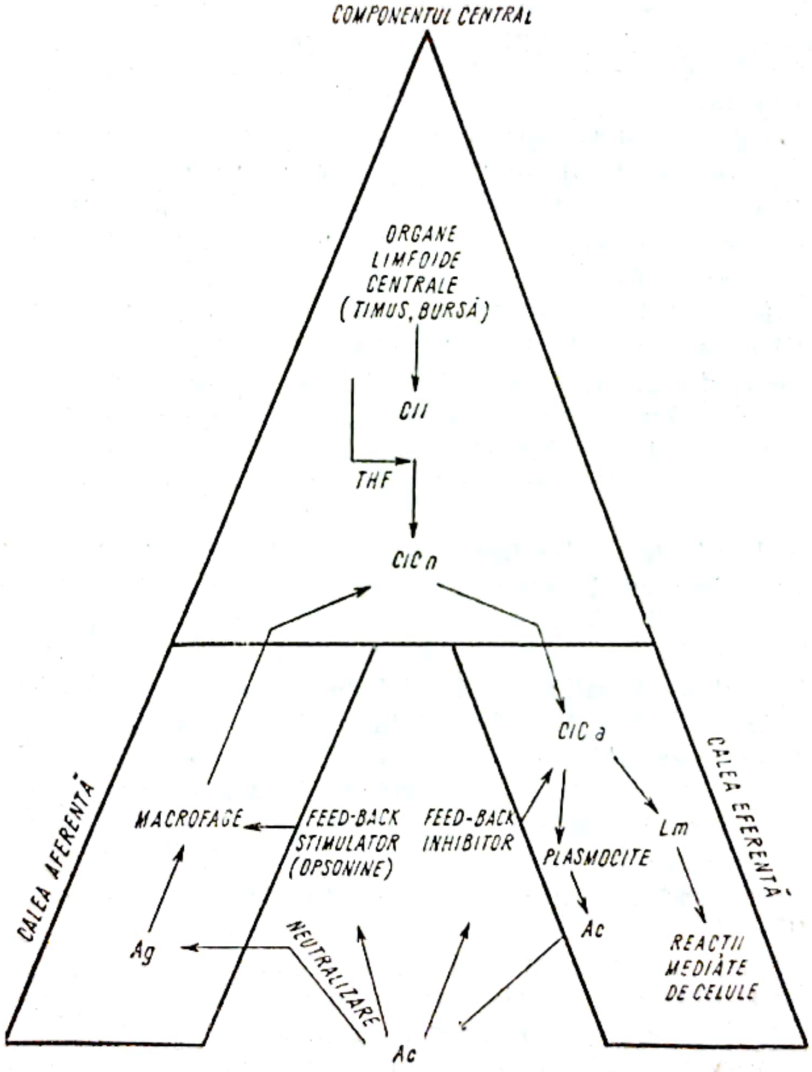


Fig. 3. Elementele reflexului imunologic.

Ag=antigen; Ac=anticorp; CII=celulă imunologic incompetentă; THF=factorul humoral timic; CIC_n=celulă imunologic competentă neangajată; CIC_a=celulă imunologic competentă angajată; Lm=limfocit mic.

1. Captarea antigenului de către macrofage are loc în cîteva etape: *a*) aderă la membrana macrofagului; *b*) membrana celulară se invaginează, formîndu-se vacuole (fagozomi); *c*) vacuolele fu-

Scanned with OKEN Scanner

zionează între ele și apoi cu particulele lizozomale, apărînd complementul fagolizozomal. Enzimele hidrolitice dezasamblează macromoleculele proteice sau antigenele în fragmente care conțin grupările determinante specifice asociate cu ribozomi. La animalele imunizate (răspuns secundar), fagocitoza e grăbită de efectul opsonic al anticorpilor elaborați în cursul răspunsului primar. În macrofag nu are loc un proces semnificativ de prelucrare în sens chimic a antigenului (76). El ar juca însă un rol crucial în modul de prezentare a antigenului la limfocit, dictînd prin aceasta toleranța sau răspunsul imun. Macrofagele captează antigene organizate (celule, bacterii), care, prezentate ca atare limfocitelor, nu sînt stimulante, în timp ce pentru antigenele proteice solubile acționează ca un dispozitiv de concentrare prin intermediul căruia pot fi crescute dozele mici de antigen.

Astăzi se face o diferențiere între *macrofagele medulare*, situate în sinusuri, și *macrofagele dendritice*, din foliculii limfatici corticali. Primele fagocitează antigenul cam ca toate celulele reticulare. În macrofagele dendritice, antigenul e distribuit altfel, fiind reținut în concentrații ridicate pe suprafața membranei celulare care acoperă prelungirile fine ale acestor celule. Penuria de lizozomi din prelungirile dendritice face probabil ca antigenul să nu fie digerat, ca în macrofagele medulare, ci să persiste nedenaturat, prin dispoziția sa de suprafață fiind accesibil oricărui limfocit adiacent. Pentru răspunsul primar de tip imunoglobulină *M*, această localizare intrafoliculară nu pare necesară, dar poate fi trebuincioasă dezvoltării răspunsului imun secundar și memoriei imunologice (82).

Antigenul injectat subcutanat e captat de ganglionii limfatici regionali, iar cel administrat intravenos, de splină. În ganglionul limfatic, antigenul se localizează în două regiuni: în macrofagele sinusurilor medulare și în celulele reticulare dendritice din foliculii limfatici corticali. În splină, antigenul se localizează inițial în pulpa roșie, apoi pătrunde în pulpa albă, fără să ajungă în imediata vecinătate a arteriolei, fiind adus aici probabil de o celulă transportoare. Cu cît e mai imunogenic stimulul antigenic, cu atît localizarea intrafoliculară e mai importantă. Imunizarea activă sau pasivă accelerează localizarea intrafoliculară, proces în care efectul opsonic al anticorpului joacă probabil un rol important. Aceste date au fost obținute prin cercetări făcute cu antigen flagelar, marcat cu I^{125} (28).

Endocitoza e un proces întîlnit în întreaga scară filogenetică. La unicelulare are atît rol nutritiv, cît și de apărare imunologică. La pluricelulare, macrofagele pierzînd contactul direct cu mediul extern, funcția nutritivă își reduce mult importanța, dezvoltîndu-se îndeosebi activitatea de apărare imunologică, funcție favorizată de localizarea macrofagelor în regiuni unde sîngele circulă mai încet (splină, ganglionii limfatici, ficat) (80).

2. Transferul informației antigenice la limfocitul mic. Fragmentele antigenice apărute în macrofag sînt transferate unei celule foarte asemănătoare cu limfocitul mic matur. Studii recente și

Scanned with OKEN Scanner

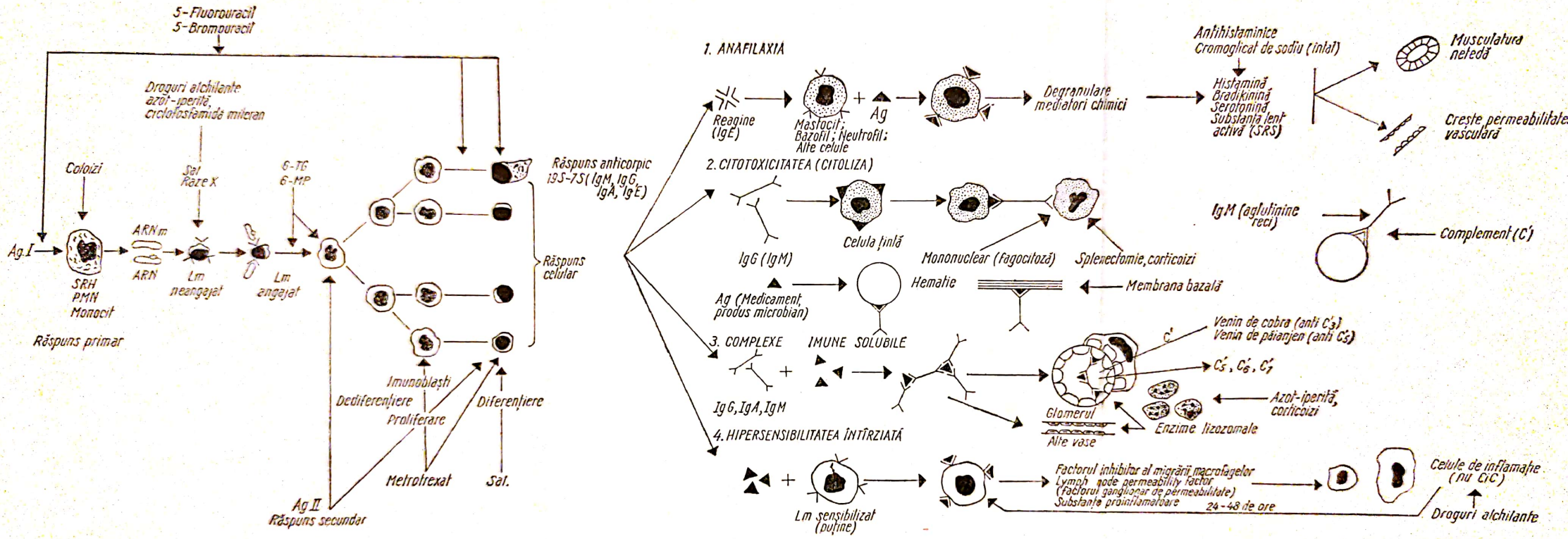


Fig. 4. — Componentele răspunsului imun.

AgI = administrarea antigenului în cadrul răspunsului imun primar; **AgII** = administrarea antigenului în cadrul răspunsului imun secundar; **SRH** = sistem reticulo-histiocitar; **PMN** = polimorfonuclear; **ARN** = acid ribonucleic; **ARNm** = acid ribonucleic mesager; **Lm** = limfocit mic; **SAL** = ser antilimfocitar; **IgG** = imunoglobulină G; **IgA** = imunoglobulină A; **IgM** = imunoglobulină M; **IgE** = imunoglobulină E; **Ag** = antigen; **CIC** = celule imunologic competente; **C'** = complement; **C'5, C'6, C'7** = factori ai complementului cu acțiunea chimiotactică; **6 — TG** = 6 — tioguanină; **6 — MP** = 6 — mercaptopurina.

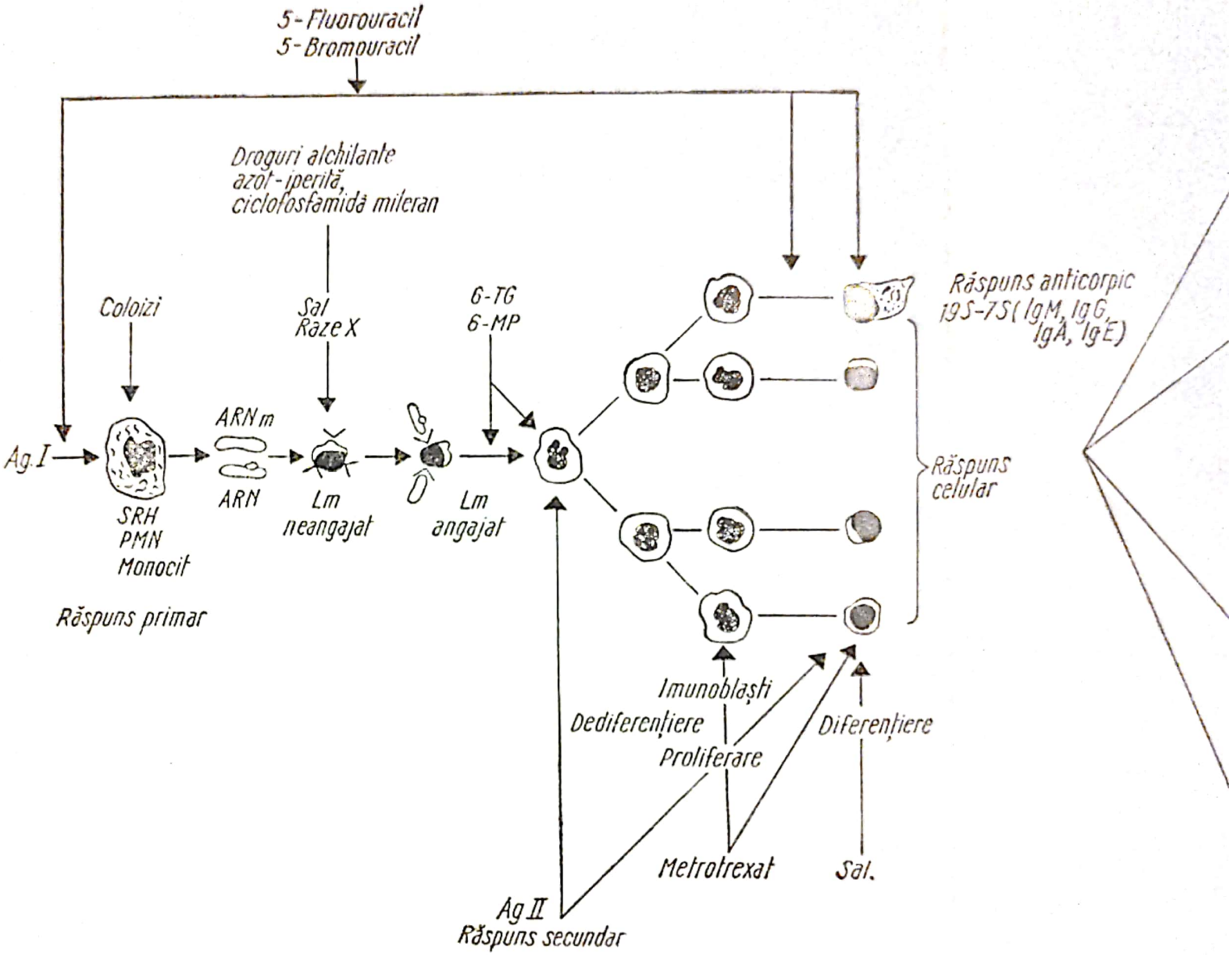


Fig. 4. – C

AgI = administrarea antigenului în cadrul răspunsului imun primar; **AgII** = administrarea
ARN = acid ribonucleic; **ARNm** = acid ribonucleic mesager; **Lm** = limfocit mic; **SAL** = ser a
Ag = antigen; **CIC** = celule imunologic competente; **C'** = complement; **C'$_5$**, **C'$_6$**,

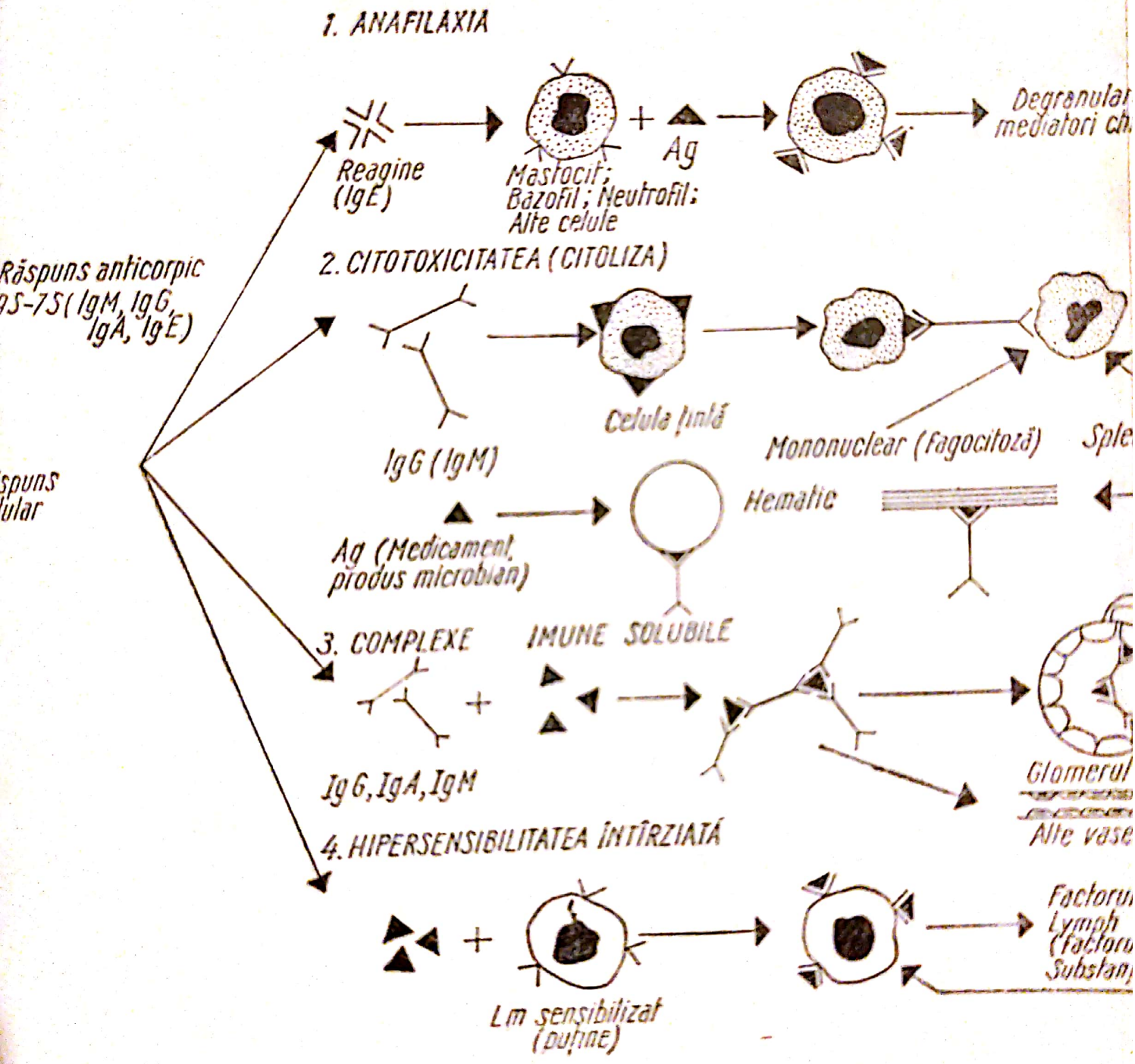
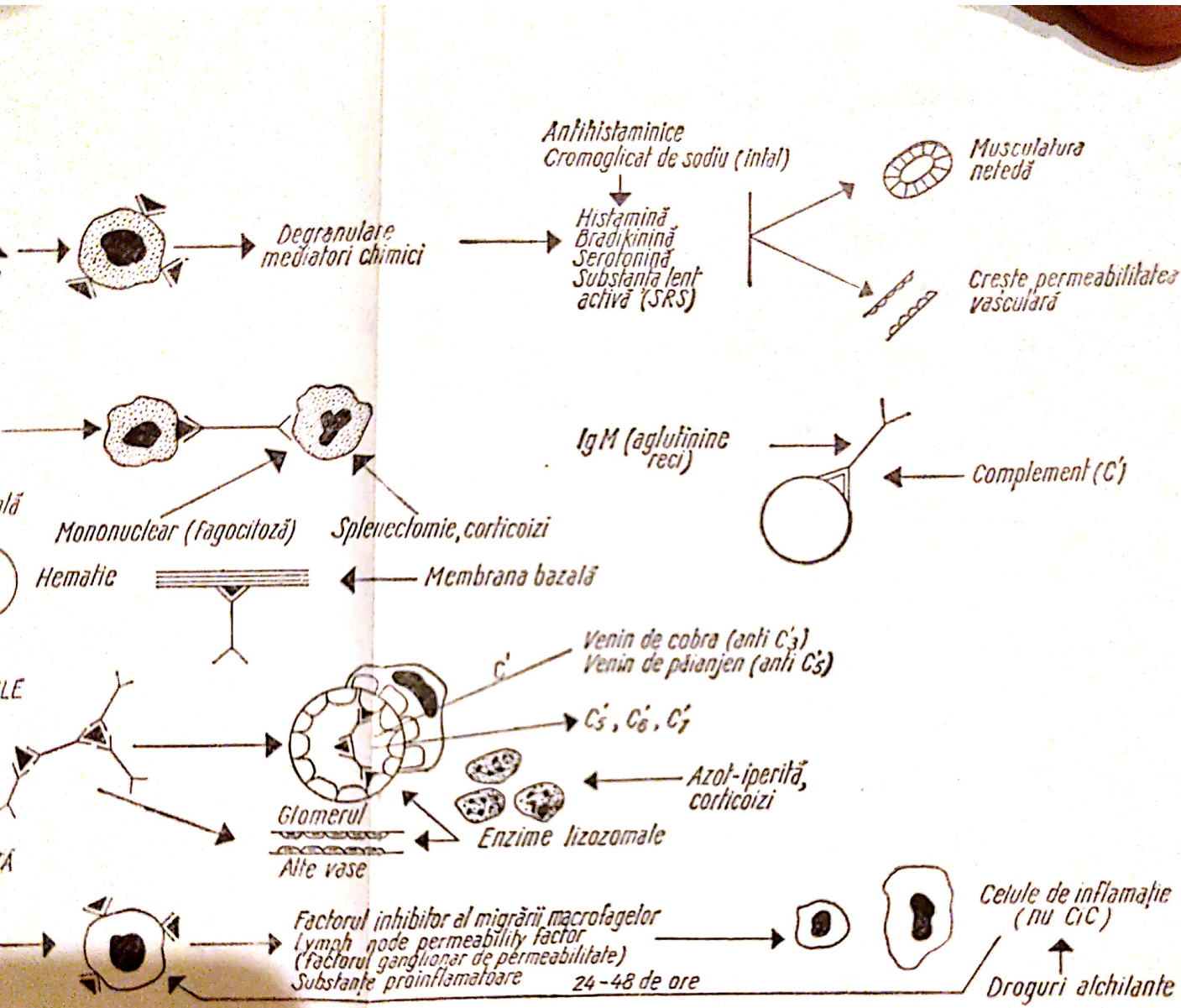


Fig. 4. — Componentele răspunsului imun.

or; AgII = administrarea antigenului în cadrul răspunsului imun secundar; SRH = siste
limfocit mic; SAL = ser antilimfocitar; IgG = imunoglobulină G; IgA = imunoglobulină A; Ig
= complement; C'5, C'6, C'7, = factori ai comlementului cu acţiunea chimiotactică; 6 — TG



...n.
...ul imun secundar; SRH = sistem reticulo-histiocitar; PMN = polimorfonuclear;
...nă G; IgA = imunoglobulină A; IgM = imunoglobulină M; IgE = imunoglobulină E;
...u acțiunea chimiotactică; 6 – TG = 6 – tioguanină; 6 – MP = 6 – mercaptopurina.

Scanned with OKEN Scanner

mai vechi au arătat că substratul material al acestui transfer este reprezentat de două tipuri de acid ribonucleic: un acid ribonucleic liber și altul legat de un fragment antigenic apărut în macrofag (2; 33).

Acidul ribonucleic liber are toate însușirile unui acid ribonucleic de tip mesager. Constanta de sedimentare e de 8—10 S, iar sinteza sa are loc după captarea antigenului de către macrofag, astfel încît conține informatia antigenică specifică. Are o slabă capacitate imunogenă, inducînd — la 3—5 zile după administrarea imunoglobulinei — anticorpi specifici de tip imunoglobulină *M*, cu un alotip identic cu al donatorului de macrofage dacă sinteza de anticorpi e indusă artificial la un alt animal. E foarte sensibil la ribonuclează și rezistent la pronază.

Acidul ribonucleic legat de un fragment din antigen, pe care-l transportă sub această formă la limfocitul mic, e sintetizat înainte si independent de pătrunderea antigenului în macrofag, astfel că nu conține nici o informație antigenică. Nu e decît un transportor de imunogen.

Complexarea acidului ribonucleic cu un fragment antigenic mărește de cinci-șase ori imunogenitatea resturilor antigenice, realizînd ceea ce Askonas si Rhodes (2) au numit „superantigenul". Sub această formă, antigenul induce tardiv, la 12—14 zile după inoculare, o sinteză de anticorpi specifici, de tip predominant imunoglobulină *G*, cu un alotip identic cu al animalului în care are loc sinteza de anticorpi. Are o constantă de sedimentare de 23—28 S. Completarea acidului ribonucleic cu antigenul e demonstrată de înlăturarea activității imunogene prin pronază și prin precipitarea sa cu anticorpi specifici antigenului (95; 81).

Transferarea acestor tipuri de acid ribonucleic de la macrofag la limfocit are loc, fie prin difuzarea lor în torentul sanguin — mai probabil limfatic —, fie direct între macrofagele dendritice si medulare și limfocitele din foliculi și sinusuri, asa cum pare s-o dovedească aderarea limfocitelor mici la suprafața celulelor reticulare dendritice din ganglionii limfatici regionali stimulați (nu și la cei contralaterali), între aceste celule dezvoltîndu-se punți citoplasmatice (82).

În concluzie, macrofagul realizează următoarele operații legate de răspunsul imun: captează antigenul din circulație, împiedicîndu-l să paralizeze celulele imunologic competente, concentrează antigenul la un nivel imunogenic, îl fragmentează în structuri mai imunogenice, transferă informatia antigenică.

Pe lîngă efectul acizilor nucleici, de stimulare specifică a sintezei de anticorpi, e cunoscută astăzi și acțiunea lor de stimulare nespecifică, de tip adjuvant (41), exercitată îndeosebi de acizii nucleici proveniți din distrucțiile celulare și, mai ales, din macrofage.

3. Dediferențierea limfocitelor mici ale *poolului circulant*. Am menționat într-un paragraf anterior că sub aspectul de limfocite mici se ascund cel puțin trei categorii celulare: limfocite mici incompetente imunologic (limfocite mici timice și medulare) și limfocite mici recirculate, dotate cu competență imunologică. Cele două grupuri de limfocite mici sînt afectate în mod diferit de agenții imunosupresivi (52; 95).

Scanned with OKEN Scanner

Limfocitul mic al *pool*-ului circulant e stimulat de fixarea pe receptorii lui specifici de suprafață (probabil anticorpi specifici pentru imunogen) a celor două tipuri de acid ribonucleic. Pe suprafața celulei există un număr limitat de receptori, saturați astfel de un număr finit de molecule de acid ribonucleic. După saturarea tuturor receptorilor de suprafață, stimularea sintezei anticorpilor nu mai poate crește peste pragul atins.

Contactul dintre acidul ribonucleic și receptor „angajează" limfocitul mic în procesul de dediferențiere și diviziune: limfocitul mic cu aspect matur își mărește volumul; cromatina sa, dispusă în blocuri grosolane, devine fin reticulată; apar nucleolii: citoplasma își modifică tinctorialitatea spre bazofilie, ca expresie morfologică a unor sinteze crescute de acid dezoxiribonucleic și acid ribonucleic. Această celulă e cunoscută sub numele de *imunoblast* sau *celulă blastică mare, pironinofilă* (34). Ea suferă diviziuni rapide, adică un proces de *proliferare*, dezvoltîndu-se astfel clona celulară care va răspunde la stimulul antigenic. Proliferarea imunoblaștilor începe la 12—48 de ore după administrarea antigenului. Celulele blastice se divid la fiecare 8—10 ore și suferă opt-nouă diviziuni mitotice, trecînd prin faza de plasmoblast, celulă plasmatică imatură, plasmocit matur. Din imunoblaști rezultă și *limfocite mici angajate* (sensibilizate).

4. Diferențierea imunoblaștilor spre plasmocite și/sau limfocite mici angajate imunologic. În funcție de natura antigenului, imunoblaștii — caracterizați prin mitoze foarte active — se diferențiază fie spre plasmocite — deci spre sinteza de anticorpi circulanți (răspuns anticorpic, umoral) —, fie spre limfocite mici angajate (răspuns celular), fie spre ambele tipuri celulare, cum s-a afirmat recent avînd în vedere sinergismul acțiunii anticorpilor și celulelor sensibilizate (44).

Răspunsul imun anticorpic. Înainte de a prezenta răspunsul imun de tip umoral trebuie clarificate cîteva probleme de terminologie. Răspunsul anticorpic este primar sau secundar. Prin *răspuns primar* înțelegem totalitatea modificărilor morfologice și umorale care apar după un prim contact cu antigenul; *răspunsul secundar (anamnestic)* cuprinde modificările care au loc după un nou contact cu un același antigen într-un moment în care sîngele circulant nu mai conține antigenul administrat anterior, iar titrul anticorpilor produși după prima stimulare a atins cel mai scăzut nivel.

Faza inductivă (de latență, de lag) este perioada de după contactul cu antigenul în care anticorpii nu pot fi detectați nici în ser, nici în extractele țesuturilor producătoare de anticorpi. La scară celulară, în perioada inductivă au loc numeroase fenomene: captarea antigenului, transferul informației, dediferențierea, proliferarea, diferențierea. Durează mai mult la primul contact cu antigenul și mai puțin la un nou contact. În cazul răspunsului secundar, perioada de lag ar putea ține de recrutarea unor noi celule nestimulate la primul contact cu antigenul. Celulele cu memorie imunologică, angajate în răspunsul imun, ar răspunde la un nou contact cu antigenul prin sinteză de anticorpi, fără să mai treacă

Scanned with OKEN Scanner

printr-o perioadă de latenţă (52). Studii cu aminoacizi marcaţi au arătat că sinteza anticorpilor are loc mult mai rapid, îndeosebi în cursul răspunsului secundar. Detectarea tardivă a anticorpilor (perioada de latenţă) ţine de întîrzierea eliberării lor din celulă, de enorma diluare a anticorpilor nou formaţi în lichidele corpului şi de combinarea primelor cantităţi de anticorpi cu excesul de antigen, formîndu-se complexe imune nedecelabile prin metodele uzuale de titrare a anticorpilor, care identifică numai moleculele de anticorpi libere (49).

Faza productivă se caracterizează prin apariţia anticorpilor specifici în ser şi umori.

Răspunsul primar. Diferenţierea imunoblaştilor duce — trecînd prin etapele morfologice de plasmoblast şi celulă plasmatică imatură — la apariţia plasmocitelor. Plasmoblaştii se văd în cîmpurile limfocitare ale ganglionilor limfatici şi în stratul periarteriolar de limfocite ale pulpei albe splenice la 24 de ore după contactul cu antigenul. Din ei apar între a doua şi a cincea zi plasmocitele mature. Majoritatea lor cad în sinusurile ganglionare sau splenice, sînt antrenate de limfă sau sînge şi colonizează alte ţesuturi limfoide, dezvoltînd un răspuns imun la distanţă, nu numai regional. Centrii germinativi care apar la cinci zile după stimulare nu contribuie în mod esenţial la producerea iniţială a anticorpilor. Ei ar genera celulele cu memorie imunologică.

Paralel cu procesul de diferenţiere se dezvoltă reticulul endoplasmic, crescînd deci cantitatea de imunoglobuline intracelulare. Primele molecule anticorpice, cu mare greutate moleculară, de tip I*gM* (19 S), sînt elaborate de plasmoblaşti, fiind foarte eficiente în legarea antigenelor particulate (bacterii, eritrocite), mai puţin însă în legarea antigenelor solubile (toxine).

Pe măsura maturării plasmoblaştilor la plasmocite are loc o comutare a sintezei de imunoglobuline *M* spre sinteza de imunoglobuline *G*. Aceste noi molecule anticorpice sînt mai eficiente în legarea antigenelor solubile, afinitatea lor de legare cu antigenul crescînd de aproximativ 10 000 de ori. O dată apărute, moleculele de imunoglobulină *G* ar inhiba sinteza de imunoglobuline *M*.

La animalele tinere sau la vertebratele inferioare nu are loc sinteza anticorpilor de tip imunoglobuline *G*; cu alte cuvinte, apariţia imunoglobulinelor *G* e o achiziţie mai tîrzie şi mai complexă, atît în filogenie, cît şi în ontogenie.

Deşi s-a afirmat că anticorpii de tip imunoglobulină *M* apar înaintea celor de tip imunoglobulină *G* şi *A*, ei se formează probabil simultan, posibilitatea de a fi decelaţi urmînd această ordine. Dezvoltarea aparent tardivă a imunoglobulinelor *G* ţine de sensibilitatea scăzută a metodelor respective de punere în evidenţă (38; 39; 49).

Plasmocitele sînt celule foarte specializate, care nu se mai divid, fiecare producînd un anticorp cu o singură specificitate de combinare (un plasmocit, un anticorp). Majoritatea trăiesc numai o săptămînă; doar la 1% din ele viaţa durează mai multe luni, fiind capabile de o sinteză continuă de anticorpi.

Scanned with OKEN Scanner

Anticorpii de tip imunoglobulină *E* și imunoglobulină *A* se fixează pe piele și mucoase, intervenind probabil ca să apere suprafețele expuse ale corpului de infiltrarea microorganismelor. Pentru imunoglobulinele *D* nu s-a demonstrat deocamdată funcția de anticorpi (25).

Răspunsul secundar. După un stimul antigenic secundar se formează rapid noi centri germinativi și e activată diviziunea celulelor la nivelul acestora. Centrii germinativi apăruți în cursul răspunsului primar prepară organismul pentru răspunsul secundar, fixînd la acest nivel imunoglobuline anticorpice, în marea lor majoritate nesintetizate local. Ele ar funcționa aici ca opsonine, cu rolul de a ușura captarea antigenului de către celulele reticulare dendritice.

Răspunsul secundar se caracterizează prin dezvoltarea rapid ascendentă și limitată în timp a unui titru ridicat de anticorpi de tip 7 S din clasa imunoglobulinelor *G* și în mai mică măsură de tip imunoglobuline *M* (19 S).

În cursul răspunsului imun secundar are loc stimularea directă a imunoblaștilor sau a limfocitelor mici angajate fără să mai treacă prin etapele anterioare, deși are loc, fără îndoială, și un proces de recrutare a unor noi clone de celule imunologic competente neangajate, cu reeditarea evenimentelor petrecute în cursul răspunsului primar (captare, prelucrare, transfer de informație, dediferențiere, proliferare, diferențiere).

Dezvoltarea promptă a unui titru crescut de anticorpi în cursul răspunsului secundar ține de existența unei populații de celule cu memorie imunologică apărute după stimulul primar și care ar fi, după unii, o celulă limfoidă mare, iar după alții, un limfocit mic angajat, cu atît mai mult cu cît e vorba de o celulă cu viață lungă. O diferențiere morfologică între limfocitul mic neangajat și cel angajat în răspunsul imun, dotat cu memorie imunologică, e practic imposibilă. Nu se cunoaște încă precis tipul celular incriminat în răspunsul secundar.

S-a demonstrat că vertebratele inferioare sînt incapabile să producă un răspuns secundar (pot da un răspuns primar), de unde reiese că celulele dotate cu memorie imunologică se dezvoltă și evoluează separat de celulele responsabile de răspunsul primar (28).

S-a mai arătat că la vertebratele inferioare și la animalele foarte tinere lipsesc centrii germinativi. Ele nu pot elabora imunoglobuline *G* și nici nu pot da naștere unui răspuns secundar. Prin urmare, dezvoltarea centrilor germinativi este asociată, atît ontogenetic, cît și filogenetic, cu capacitatea de a produce imunoglobuline *G* și un răspuns secundar.

Între răspunsul imun primar și cel secundar există importante deosebiri care justifică această diferențiere:

a) antigenul reinjectat în cazul răspunsului secundar (nu și al celui primar) reacționează cu micile cantități de anticorpi specifici din circulație — apăruți în urma primului contact cu antigenul — sau cu cei de pe suprafața celulelor imunologic competente angajate. Rezultă complexe imune antigen-anticorp, care, fiind foarte rapid fagocitate, sînt și foarte imunogene;

Scanned with OKEN Scanner

b) ordinea apariției imunoglobulinelor: în răspunsul primar apare întîi și predominant imunoglobulina *M* (19 S) și apoi imunoglobulina *G*; în răspunsul secundar apare predominant imunoglobulina *G* (7 S), concomitent cu imunoglobulina *M*;

c) cinetica doză-răspuns anticorpi: în răspunsul primar, producția anticorpilor e foarte prelungită, dar la titruri joase; în cel secundar, producția anticorpilor durează puțin (patru săptămîni sau nici atît), dar la titruri foarte înalte;

d) sensibilitatea la drogurile imunosupresive: răspunsul primar este suprimat prin scăderea *pool*-ului de limfocite mici circulante prin raze *X*, drenarea canalului toracic, droguri limfolitice, ser imun specific, splenectomie, în timp ce răspunsul secundar nu e afectat (92).

Răspunsul imun celular. În răspunsul celular, limfocitele mici neangajate — situate în cîmpurile limfocitare ganglionare și în stratul de limfocite mici periarteriolare din splină — se transformă datorită contactului cu antigenul în celule pironinofile mari, care în urma unui proces de proliferare și diferențiere vor genera limfocite mici angajate imunologic (sensibilizate). Foliculii limfatici nu participă la acest tip de răspuns, iar centrii germinativi nu se dezvoltă sau sînt produși cu totul neregulat. S-a încercat să se asocieze răspunsul celular cu faza inițială inductivă (celulară) a răspunsului imun. Cercetările făcute cu imunosupresoare sugerează însă că acest proces nu e neapărat preludiul sintezei anticorpilor (94). Răspunsul umoral și acela celular pot apărea și evolua concomitent (44). Prototipul răspunsului imun de tip celular este reprezentat de hipersensibilitatea de tip întîrziat la tuberculină.

Leziunile tisulare provocate de celulele sensibilizate nu necesită anticorpi circulanți, ci anticorpi produși de înseși limfocitele mici situate pe suprafața celulei. Grație acestor anticorpi, celulele sensibilizate aderă de țesuturile țintă. Conflictul imunologic prin răspuns celular va fi prezentat în capitolul 5.

5. Mecanismele efectoare. Efectul acestui lanț succesiv de fenomene este conflictul imunologic, exercitat prin patru tipuri de mecanisme: anafilaxia, citotoxicitatea (citoliza), complexele imune solubile și răspunsul imun celular (hipersensibilitatea întîrziată) (24; 25; 96). Ele vor fi prezentate detaliat în capitolul 5.

Reglarea răspunsului imun. Controlul răspunsului imun este mai degrabă postulat decît dovedit. Nu încape îndoială că trebuie să existe un anumit control pentru a limita recrutarea celulelor imunologic competente la un anumit stimul antigenic. Recrutarea tuturor celulelor imunologic competente ar face imposibil un răspuns imun la un al doilea sau al treilea stimul. Un asemenea mecanism reglator trebuie să împiedice proliferarea nelimitată a celulelor imunologic competente angajate în răspunsul imun și să controleze regenerarea *pool*-ului de celule imunologic competente neangajate cînd acesta s-a golit.

Răspunsul imun poate fi reglat prin diverse mecanisme (genetice, anatomice, fiziologice, imunologice), trecute recent în revistă de Miller (75).

Scanned with OKEN Scanner

Factorii genetici ar controla populația de celule imunologic competente. Există foarte probabil o restricție a numărului de celule imunologic competente neangajate, virgine, capabile să răspundă la antigen. Teoria selecției clonale, susținută de Burnet (11), presupune tocmai o asemenea limitare: fiecare clonă ar fi genetic capabilă să producă anticorpi specifici pentru unul sau foarte puțini determinanți antigenici. La nivelul celulelor imunologic competente angajate trebuie să existe de asemenea o limitare genetic determinată a numărului maxim de diviziuni de care sînt capabile aceste celule.

Astfel, răspunsul imun se poate autolimita chiar în absența unui mecanism inhibitor de *feedback*.

Factorii anatomici operează în sensul că celulele imunologic competente recirculate, virgine, pot stabili un contact efectiv cu antigenul sau macrofagele numai în anumite regiuni ale ganglionului limfatic sau în splină. De asemenea, timusul oferă celulelor imunologic competente un loc relativ protejat de antigen, în care pot scăpa de angajarea într-un răspuns imun, fiindu-le cu putință să se dividă cu mare viteză.

Factorii fiziologici. Procesul recirculării limfocitelor mici reprezintă un mecanism rafinat pentru recrutarea unui anumit număr de celule imunologic competente. Pentru angajarea lor în răspunsul imun nu e suficient tranzitul prin ganglionii limfatici regionali stimulați sau prin splină. Celulele imunologic competente trebuie să stabilească un contact efectiv cu macrofagele într-un interval limitat, în primele șase ore de după inclavarea antigenului de către macrofag. Date recente sugerează că antigenul preparat de macrofag e efectiv imunogen numai pentru un răstimp limitat, de aproximativ șase ore (McCulloch, 1967, citat de 75).

Factorii imunologici. Atît antigenul, cît și anticorpii pot regla intensitatea răspunsului imun.

Antigenul recrutează mai multe celule în doze mari decît în doze mici. Este posibil ca celulele-fiice ale celulelor imunologic competente angajate să-și dobîndească potențialul proliferativ complet abia cînd sînt stimulate în repetate rînduri de antigen.

Anticorpii, o dată apăruți, operează prin două mecanisme de *feedback* opuse: prin activitatea de tip opsonic facilitează fagocitarea rapidă a antigenului, punînd astfel la dispoziția sistemului imun un stimul mai eficient în angajarea celulelor imunologic competente; prin combinarea lor cu antigenul și acțiunea lor inhibitoare asupra acestor celule, anticorpii apăruți limitează sau inhibă răspunsul imun.

Administrînd unui animal ser imun specific împreună cu antigenul corespunzător are loc o inhibare parțială sau totală a răspunsului imun primar, nu și a celui secundar. Antiserul care conținea predominant anticorpi de tip imunoglobuline *M* a inhibat mai slab producția de anticorpi. S-a constatat o oarecare inhibiție administrînd anticorpii, fie înainte, fie la foarte scurt timp după administrarea antigenului.

Antiserul care conține predominant anticorpi de tip imunoglobuline *G* inhibă producția de imunoglobuline *M* dacă e dat împreună cu antigenul, inhibă producția de imunoglobuline *G* dacă e administrat la

Scanned with OKEN Scanner

una-două zile după antigen (nu însă la cinci-șapte zile după acesta), și împiedică dezvoltarea memoriei imunologice pentru imunoglobulinele G.

Se pare că anticorpii administrați pasiv nu împiedică sinteza în continuare a anticorpilor de către celulele imunologic competente deja angajate, nici dezvoltarea ulterioară a celulelor cu memorie, ci mai degrabă inhibă proliferarea celulelor recent angajate sau însăși angajarea și diferențierea ireversibilă a celulelor imunologic competente care au fost recrutate relativ tîrziu de către antigen.

Prin urmare, antigenul poate orienta către toleranță majoritatea celulelor imunologic competente virgine, angajînd o minoritate spre o singură direcție de răspuns imun. Anticorpii produși ar putea împiedica toate celulele imunologic competente rămase să mai răspundă, cel puțin temporar, la același antigen.

Acest mecanism automat de reglare permite menținerea permanentă a unui *pool* de celule nereceptive la antigenul dat, dar capabile să răspundă la alte antigene.

Dacă factorii imunologici reglează răspunsul imun așa cum s-a menționat, nu mai e necesar să se presupună existența unor clone multiple preexistente genetic, capabile să răspundă la un singur stimul antigenic. Celulele imunologic competente neangajate pot fi multipotente, adică potențial capabile să reacționeze cu multe antigene. Factorii imunologici (antigenul și anticorpii) care reglează răspunsul imun ar crea automat eterogenitatea de tipul celei postulate, conform teoriei selecției clonale (75).

Scanned with OKEN Scanner

5

MECANISMELE EFECTOARE ALE CONFLICTULUI IMUNOLOGIC

Inițierea conflictului imunologic se realizează prin cel puțin patru mecanisme efectoare fundamentale, descrise de Coombs și Gell (24) și Coombs (25) sub denumirea de reacția de tipul I, al II-lea, al III-lea și al IV-lea. Aceleași mecanisme au fost denumite de Schwartz (96), respectiv, anafilaxie, citoliză (citotoxicitate), complexele imune solubile și hipersensibilitatea întîrziată. Cele patru tipuri se referă la un individ sensibilizat prin expunere anterioară la antigen.

În forma lor pură, aceste patru mecanisme fundamentale se pot vedea numai la anumite specii animale, în condiții strict experimentale. La om, ele se asociază adesea în proporții variabile, cu preponderența unui mecanism, pentru a duce la leziune (tabelul III).

Anafilaxia (reacția de tipul I). Inițial, antigenul (alergenul) face să apară la nivelul sistemului imun anticorpi de un tip particular, cunoscuți sub numele de *reagine*, identificați cu un tip nou de imunoglobuline, denumite imunoglobuline *E*, produse în special de celulele imunologic competente situate în mucoasa respiratoare și gastro-intestinală, dar și în ganglionii limfatici regionali ai acestor mucoase (55).

Anticorpii de tip imunoglobuline *E* produși datorită unui stimul alergenic sau administrați pasiv (reacția Prausnitz-Küstner) pot sensibiliza anumite celule grație proprietății lor unice de a adera de ele (citofilie), realizată pe baza configurației fizico-chimice specifice a unei porțiuni din lanțul *H*, și anume prin fragmentul *Fc*, care îi conferă deci și specificitatea biologică.

Imunoglobulina *E* se leagă în sînge de polimorfonucleare și bazofile, iar în țesuturi, de mastocite și probabil de altele (celulele endoteliale vasculare, din plămîn etc.). Concentrația imunoglobulinelor *E* la adultul sănătos este foarte joasă, de ordinul milimicrogramelor, crescînd mult la

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL III

Mecanismele efectoare ale conflictului imunologic şi manifestările clinice

Tipul	Mecanismul	Manifestări clinice
Anafilaxia (tipul I)	— Alergen — Imunoglobuline *E* — Substanţe farmacologic-active: histamina, serotonina, bradikinina, substanţa lent reactivă	— Reacţii anafilactice după seroterapie, droguri (penicilină), ruperea unui chist hidatic — Manifestări alergice locale
Anticorpi citotoxici (tipul al II-lea)	— Antigene ale membranelor celulare, bazale, produse microbiene sau droguri „plantate" aici — Imunoglobuline *G* (mai rar *M*) — Mononucleare, sechestrare în sistemul reticulo-histiocitar — Complement	— Anemie, trombopenie, leucopenie autoimună — Tireotoxicoze, glomerulonefrită acută şi cronică, anemie pernicioasă, miastenie, scleroză multiplă
Complexe imune solubile (tipul al III-lea)	— Complexe antigen-anticorp care apar intra- sau extravascular — Leziuni vasculare — $C' \rightarrow C_5', C_5, C_7$ — polimorfonucleare → enzime lizozomale	— Boala serului, lupus, artrită reumatoidă, glomerulonefrite acute, nefrita febrei cvarte — Fenomenul Arthus — Vasculite alergice — Reacţii la droguri (penicilină, sulfamide) Boala plămînului de fermier, boala avicultorilor
Hipersensibilitatea întîrziată (tipul al IV-lea)	— Antigen exogen, autoantigen tisular sau organic — Limfocite mici sensibilizate specific (puţine) — Factorul inhibitor al migrării macrofagelor, factorul de permeabilitate ganglionară — Mononucleare nesensibilizate (multe)	— Dermatita de contact — Hipersensibilitatea întîrziată infecţioasă — Respingerea homografei — Manifestări autoimune (tiroidite, gastrite acute)

Scanned with OKEN Scanner

individul alergic, spre deosebire de bolile autoimune, unde titrul imunoglobulinelor *E* pare să fie normal (53). Prezența activității reaginice la alte clase de imunoglobuline decît cele *E* nu e încă precizată la om (46). Se pare însă că imunoglobulinele *G* și imunoglobulinele *A* intervin în mecanismele reglatoare ale producerii de anticorpi reaginici într-un mod încă necunoscut (42).

La recontactul cu antigenul se declanșează reacția alergică, combinîndu-se antigenul (alergenul) cu reagina fixată pe celule prin intermediul fragmentului *Fab*, care îi conferă astfel specificitate imunochimică. Se crede că această combinare inițiază modificări conformaționale critice în molecula de imunoglobulină *E* legată de celulă, care fac oficiul de mecanism de trăgaci în seria de evenimente ce culminează cu eliberarea aminelor vasoactive, mediatorii chimici ai reacțiilor alergice (97). Nu sînt cunoscute procesele moleculare interne de la nivelul membranei celulare după unirea antigenului cu reagina.

Din polimorfonucleare se descarcă substanța lent reactivă, iar din mastocit, histamina, bradikinina și serotonina. Expresia morfologică a acestui proces constă în degranularea mastocitelor și polimorfonuclearelor.

Mediatorii chimici acționează asupra permeabilității vasculare și a musculaturii netede, ducînd la prurit, edem, spasm al musculaturii netede (spasm bronșic, de exemplu), scădere a tensiunii arteriale.

S-a demonstrat că imunoglobulina *E* de tip mielomatos sau fragmentul său *Fc* — administrat local sau sistemic — au posibilitatea să se lege de celule, fără a putea fixa însă antigenul. Drept urmare, proteina mielomatoasă de tip imunoglobulină *E* are un efect blocant asupra reacției alergice locale de tip Prausnitz-Küstner. Cercetarea acestor procese progresează continuu, fiind ușurată de folosirea unor agregate nespecifice de proteină mielomatoasă de tip imunoglobulină *E*, care au capacitatea de a produce o reacție tisulară imediată la om și maimuțe (97).

Anticorpii reaginici nu fixează complementul (55). Sistemul complementului nu participă la acest tip de răspuns, deși e implicat în alte tipuri de anafilaxie. O serie de studii arată că unele fracțiuni ale complementului ar avea proprietatea să elibereze histamina din mastocite (3; 54).

Prin aceste mecanisme sînt declanșate la om reacțiile anafilactice generalizate din cursul seroterapiei, tratamentelor medicamentoase (de exemplu, cu penicilină) sau apărute secundar ruperii chisturilor hidatice în cursul manevrelor chirurgicale, rupere manifestată prin șoc, crize de astm bronșic, edem pulmonar acut, urticarie. Reacțiile alergice locale (*prick*-testul, *scratch*-testul, febra de fîn, astmul alergic, urticaria) survin prin același mecanism.

C i t o t o x i c i t a t e a (*citoliza, reacția de tipul al II-lea*). Reacția este declanșată de *anticorpii citolitici* care reacționează cu un component antigenic al membranelor celulare, al membranelor bazale (acelulare), cu un produs bacterian sau medicament (haptenă), „plantat“ adesea acolo de

Scanned with OKEN Scanner

medic. Anticorpii citolitici pot reacționa cu celule care conțin antigene comune cu acelea care au indus răspunsul imun (reacție imunologică încrucișată). Anticorpul elaborat este aproape totdeauna de tip imunoglobulină *G*, cu excepția hemaglutininelor reci, care sînt de tip imunoglobulină *M*. Spre deosebire de cei reaginici, anticorpii citolitici se leagă de celule prin porțiunea *Fab* a moleculei, care conține și situsul de combinare.

Dacă sistemul antigen-autoanticorp apărut e fixator de complement, de obicei urmează citoliza. Complementul este în general necesar acestui proces, fiind însă esențial pentru efectul aglutininelor reci.

Dacă sistemul nu e fixator de complement, celulele (de pildă hematiile) sînt învelite cu imunoglobulină *G* anticorpică, ceea ce le face susceptibile să fie atacate de macrofage și alte mononucleare care se leagă de fragmentul *Fc* prin intermediul receptorilor lor specifici de suprafață. Ca urmare a acestui fapt au loc, în cazul hematiilor, sfericizarea, deformarea și fragmentarea lor.

Învelirea celulelor cu anticorpi determină fie o sechestrare rapidă și anormală în sistemul reticulo-histiocitar, fie o acțiune asupra membranelor celulare (îndeosebi în sînul țesuturilor), facilitînd ieșirea enzimelor lizozomale din celulă. Aici, deși, mecanismul patogen constă într-o lezare directă a celulelor-țintă, urmată de modificări inflamatoare.

Prin acest mecanism s-ar realiza o multitudine de condiții clinice și experimentale.

Ca exemple de mecanisme citotoxice declansate cînd antigenul se află fixat pe membrana celulară citãm: reacțiile transfuzionale, anemia hemolitică a nou-născutului, trombopenia neonatală, la care participarea complementului nu e obligatorie, și leziuni produse cu participarea obligatorie a complementului, ca anemia hemolitică autoimună, tiroidita autoimună (?), probabil unele cardite reumatice.

În condiții experimentale, orhita autoimună și leziunile provocate de serul nefrotoxic sau de serul antiantigen Forssman la cobai s-ar produce prin același mecanism. Un mecanism citotoxic este implicat în cazul transformării blastice a limfocitelor sub acțiunea serului antilimfocitar. Nu se cunoaște precis măsura în care e implicată o reacție citotoxică în respingerea homogrefei.

Reacțiile citotoxice sînt declanșate și de antigenele bacteriene sau haptenice adsorbite pe sau combinate cu celulele tisulare, ca în cazul purpurii trombopenice după sedormid, chinină sau chinidină, al anemiilor hemolitice autoimune secundare administrării unor droguri (neenzimopenice), al agranulocitozei prin droguri, glomerulonefritei acute poststreptococice (produsul bacterian s-ar combina cu anumite structuri renale care devin astfel țința anticorpilor și a complementului). Autoanticorpii mai par să fie implicați direct în patogenia glomerulonefritei cronice (30), a anemiei pernicioase, sclerozei multiple, miasteniei, tireotoxicozei (91).

Complexele imune solubile antigen-anticorp *(reacția de tipul al III-lea)*. Este bine cunoscut comportamentul *in vitro* al

Scanned with OKEN Scanner

precipitatelor imune, care, în exces de antigen, se solubilizează grație rearanjamentelor moleculare. Același fenomen are loc și *in vivo*. Grație marelui lor volum, agregatele imune *insolubile* sînt rapid captate de sistemul reticulo-histiocitar, fiind îndepărtate astfel și deci făcute inofensive.

Dimpotrivă, complexele imune *solubile* nu sînt îndepărtate imediat din sînge, așa încît se depozitează pe membrana bazală a glomerulilor renali și pe alți pereți vasculari (plămîn, piele).

Deoarece rinichii prezintă o mare suprafață vasculară, complexele imune se concentrează foarte mult la acest nivel. Prin urmare, retenția complexelor imune e favorizată de anatomia anumitor teritorii vasculare (rinichi, piele, plămîn) și de permeabilitatea capilară crescută a anumitor regiuni. Microtraumatismul pare să fie o importantă cauză a creșterii permeabilității *in vivo* și poate să explice, de pildă, sensibilitatea membranelor sinoviale și a valvelor inimii la leziunile din boala serului.

Spre deosebire de reacția de tipul al II-lea, leziunile nu sînt neapărat localizate acolo unde e inițial eliberat antigenul.

Complexele imune solubile se formează *în curentul sanguin* cînd există aici un exces de antigen, iar anticorpii care încep să fie elaborați de celulele imunologic competente se combină de îndată cu antigenul, imediat ce intră în circulație. Complexele imune apărute sînt depozitate în pereții vaselor sanguine sau în/pe membranele bazale, determinînd inflamația locală. Este situația din boala serului.

Complexele imune solubile se formează și *extravascular*, în spațiile interstițiale, cînd anticorpii se află prezenți în sînge, iar antigenul a apărut în țesuturi sau a fost injectat aici în concentrație locală mare. Microprecipitatele se formează în jurul vaselor mici, provocînd secundar leziuni ale celulelor vecine. Mecanismul descris operează în fenomenul Arthus, desi aci pare mai complex, în producerea lui intervenind și tipul I, și tipul al IV-lea de reacție.

Complementul are un rol esențial în conflictul imunologic produs prin complexe imune. El se fixează pe complexele respective si generează un produs chemotactic al complementului (C_5', C_6', C_7') care duce la acumularea polimorfonuclearelor la locul acestor reacții, predominanța lor la tipul citat de reacție fiind caracteristică. Fagocitarea excesivă a agregatelor imune de către polimorfonucleare provoacă eliberarea enzimelor lizozomale leucocitare, fiind digerate ulterior enzimatic structurile anatomice vecine pereților vasculari. Datorită alterării endoteliului vascular, la locul leziunii se depozitează fibrină, trombocite și leucocite, care devin mai adezive și tind la agregare, ducînd în cele din urmă la tromboză vasculară.

După cantitatea de complexe imune depusă local, leziunea poate varia de la o infiltrație celulară polimorfă, tranzitorie, la o tromboză vasculară extensivă cu necroză locală. La locul inflamației apar plasmocite, sugerînd ideea că se dezvoltă aici anticorpi. În concluzie, are loc o

Scanned with OKEN Scanner

reacție inflamatoare acută, cu leziuni îndeosebi vasculare, mediate de complement și de polimorfonucleare.

Expresia clinică a acestui tip de reacție e foarte variată: boala serului, poliarterita nodoasă, artrita reumatoidă, lupusul eritematos sistemic (58), glomerulonefrita acută poststreptococică (70) și, probabil, multe reacții la droguri, îndeosebi la penicilină și sulfamide. Fenomenul Arthus, în patogenia căruia întîlnim probabil și alte mecanisme, apare la subiecții cărora li se administrează seruri heterologe antitoxice și antibacteriene sau care fac un tratament îndelungat cu insulină. Același mecanism ar interveni și în vasculitele alergice, în nefrita febrei cvarte, în boala plămînului de fermier, în boala avicultorilor și în alte boli pulmonare prin hipersensibilitate, însoțite de o pneumonie interstițială (25).

Dacă generarea complexelor imune e trecătoare, ca în boala serului sau în glomerulonefrita poststreptococică, leziunea se vindecă. Dacă însă complexele imune se formează continuu, ca în cazul antigenului acid dezoxiribonucleic al lupusului eritematos diseminat (complexul imun fiind acid dezoxiribonucleic-antiacid dezoxiribonucleic) sau ca în tratamentul continuu cu penicilină, agregatele imune se strecoară de la suprafața membranei bazale în grosimea ei, toate conflictele imunologice avînd loc aici (glomerulonefrita membranoasă).

Leziuni asemănătoare nefritei lupice au fost decelate și la șoarecii *NZB/NZW* F_1. Atît la om, cît și la animal, în secțiunile de rinichi au fost depistate — prin imunofluorescență — acid dezoxiribonucleic, imunoglobuline și fracțiuni ale complementului. Cel puțin o parte din acidul dezoxiribonucleic depozitat în glomeruli este denaturat (1).

Hipersensibilitatea întîrziată *(reactia de tipul al IV-lea)* presupune sensibilizarea prealabilă a organismului (inducția hipersensibilității întîrziate), al cărei mecanism e deocamdată neclar. După recontactul cu antigenul se manifestă reacția tardivă. Acolo unde apare antigenul sensibilizant, captat de macrofage, migrează limfocite mici sensibilizate care intră în interacțiune cu antigenul prin intermediul unor receptori specifici de suprafață, foarte probabil niște anticorpi fixați pe membrana celulară. Numărul limfocitelor mici sensibilizate care participă la reacție este însă foarte mic. În urma interacțiunii cu antigenul, limfocitele mici sensibilizate (angajate) sînt antrenate la mitoze și la eliberarea unor substanțe biologic active. Se presupune că enzimele care apar datorită conflictului antigen-anticorp generează asemenea substanțe în urma acțiunii lor asupra proteinelor tisulare. Una din aceste substanțe — denumită „factorul inhibitor al migrării macrofagelor" *(macrophage inhibitina factor)* — ar determina sechestrarea celulelor mononucleare nesensibilizate în aria de interacțiune dintre limfocitele mici și antigen. Mononuclearele se acumulează progresiv, după un interval de 24—48 de ore, ceea ce explică întîrzierea reacției. O altă substanță cu caracter de hormon proinflamator decelată în zona reacției este „factorul de permeabilitate ganglionar" *(lymphnode permeability factor)*, cu originea în limfocit sau monocit. El are un efect leucotoxic, mărind permeabilitatea vasculară la proteine și mononucleare. Cînd întreaga cantitate de antigen a reac-

Scanned with OKEN Scanner

ționat — printr-un mecanism imperfect cunoscut — cu celulele imunologic competente angajate, eliberarea hormonului încetează, ca și progresiunea leziunii.

Datorită eliberării acestor substanțe se constată acumularea perivasculară a mononuclearelor și proliferarea histiocitelor, fenomene caracteristice tipului respectiv de reacție. Astfel, majoritatea celulelor participante la proces sînt mononuclearele nesensibilizate, ele determinînd procesul inflamator (102; 90; 100).

Hipersensibilitatea de tip tardiv poate fi transferată de la animalul sensibilizat la cel normal numai prin celule viabile, nu însă prin ser. Anticorpii serici nu sînt implicați în declanșarea acestei reacții, deși limfocitele mici angajate operează probabil tot prin anticorpii fixați de celulă. Există însă dovezi că hipersensibilitatea întîrziată și producția de anticorpi serici pot coexista pentru acelasi antigen, deși prima tinde să dispară sau să fie dificil de demonstrat cînd sînt produse cantități mari de anticorpi.

După Thomas si Burnet, mecanismul răspunsului imun celular ar putea fi expresia unui mecanism mai general, acesta avînd rolul de a elimina celulele apărute în urma unei mutații somatice, adică celulele neoplazice.

Expresia clinică a acestui tip de reactie este reprezentată de dermatita de contact, de hipersensibilitatea tardivă infecțioasă, de respingerea homografei, de diverse manifestări autoimune (tiroidita Hashimoto, gastrita atrofică).

S-a demonstrat experimental că encefalomielitele alergice si tiroiditele alergice pot avea ca mecanism de producere celulele imunologic competente sensibilizate (101).

Posibilitatea unei acțiuni asociate între autoanticorpi și celulele sensibilizate a fost sugerată de lucrările lui Brown, Holborow și Glynn despre mecanismul producerii orhitelor alergice la cobai. Ei au demonstrat că prima zi în care reușea identificarea autoanticorpilor pe organul țintă coincide cu aceea în care era posibilă decelarea celulelor sensibilizate. Astfel, pare să existe un sinergism de acțiune între autoanticorpii umorali si celulele sensibilizate: celulele realizează pătrunderea în organul respectiv (în membranele bazale), ușurînd accesul autoanticorpilor la organul țintă (44; 101).

O dată conflictul imunologic inițiat prin unul sau mai multe din mecanismele efectoare menționate, procesul autoimun nu se stinge, ci, dimpotrivă, se cronicizează, perpetuînd leziunile inflamatoare. Explicația acestei cronicizări trebuie căutată în leziunea imunologică primară; aceasta, prin distrugerea celulară, eliberează antigene nucleare și citoplasmatice care în mod normal nu au acces la aparatul imun. De aceea se declanșează un nou răspuns autoimun, care perpetuează inflamația absolut independent de felul în care a fost inițiată. Această evoluție prelungită, cu remisiuni și recăderi, e caracteristică suferinței autoimune.

Scanned with OKEN Scanner

Reacțiile alergice la antigenele exogene au, dimpotrivă, un caracter autolimitat: cînd antigenul dispare prin excreție sau catabolism, dispare și boala (60).

În afara bolilor în care autoimunității i se atribuie un rol inițiator, declanșant, există o seamă de suferințe (artrita reumatoidă, colita ulceroasă, cardita reumatică) în care autoimunitatea explică perpetuarea (cronicizarea) lor.

Nu se știe încă precis dacă autoimunitatea este prin ea însăși o cauză primară de boală sau dacă nu reprezintă mai degrabă o cauză de cronicizare a bolii (66).

S-a arătat că bolile presupus autoimune pot fi inițiate de orice fel de conflict, traumă sau infecție, fiind perpetuate de un proces autoimun care ar putea constitui o anomalie determinată genetic în răspunsul organismului la conflict (Whittingham, Mackay, citat de Mackay, 1969).

Funcționarea neadecvată a sistemului imun este cauza a numeroase suferințe, înglobate în noțiunea genetică de imunopatii (tabelul IV).

TABELUL IV

Clasificarea imunopatiilor

Tipul	Cauza	Mecanismul efector
1. Boli alergice	Antigene extrinseci corpului	Farmacologic (tipul I)
2. Boli autoimune	Antigene proprii organismului	Citotoxicitatea Complexele imune Celulele sensibilizate

În cadrul lor, Mackay (1969) distinge două grupuri:

a) boli generate de antigene extrinseci corpului — *bolile alergice*. Ele se caracterizează prin ușurința neobișnuită a subiectului, genetic determinată, de a răspunde prin anticorpi reaginici (diateză atopică). Mecanismul lor general de producere este farmacologic (de tipul I), tip necaracteristic bolilor autoimune. Totuși, în patogenia reacțiilor alergice se atribuie un rol și complexelor imune (vasculitele alergice) sau celulelor imunologic competente (hipersensibilitatea de contact);

b) boli provocate de antigene proprii organismului — *boli autoimune*. Mecanismele lor de producere includ anticorpi circulanți (citotoxicitatea), complexele imune solubile și celulele specific sensibilizate.

Prin urmare, manifestările autoimune pot fi definite ca suferințe morfologice sau funcționale produse sub acțiunea celulelor imunologic competente sensibilizate și/sau a anticorpilor asupra țesuturilor și organelor proprii.

După Mackay și Burnet (1963) și Mackay (1969), caracterele generale ale bolilor autoimune ar fi cele prezentate în tabelul V.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL V

Caracterele generale ale bolilor autoimune

1	Predispoziția genetică (incidența familială) — grupul tireo-gastric: tiroidita Hashimoto, mixedemul primar, tireotoxicoza, anemia Biermer, boala Addison, hipoparatiroidismul, diabetul zaharat (?) — grupul multisistemic: lupusul eritematos diseminat, artrita reumatoidă, dermatomiozita, sclerodermia, hepatita cronică lupoidă, miastenia, sindromul Sjögren
2	Leziuni histopatologice caracteristice: — acumulare de limfocite, plasmocite, dezvoltare de centri germinativi — depozitare locală de complexe imune și complement — fibroză progresivă
3	Demonstrarea autoanticorpilor
4	Demonstrarea unei hiperimunoglobulinemii policlonale sau monoclonale (mai rar)
5	Răspuns favorabil la corticoizi și imunodepresoare

1. Există o anumită predispoziție genetică, în sensul că anumite boli autoimune tind să apară în grupuri la un pacient și la rudele sale apropiate. Din acest punct de vedere s-au izolat un grup de boli zis tireo-gastric (boala Hashimoto, tireotoxicoza, mixedemul primar, anemia Biermer, boala Addison, hipoparatiroidismul, diabetul zaharat?) și unul zis multisistemic (lupusul eritematos sistemic, dermatomiozita, sclerodermia, hepatita cronică activă, miastenia gravă, sindromul Sjögren).

Femeile sînt mai susceptibile decît bărbații, momentul incidenței maxime pentru ambele sexe fiind în a doua și a treia decadă a vieții, deși pentru unele se înregistrează un vîrf după decada a cincea.

2. Leziunile histopatologice se caracterizează prin:

a) acumulare de limfocite și plasmocite, dezvoltare de centri germinativi acolo unde în mod normal nu apar — deci *celule imunologic competente;*

b) la locul suferinței se depozitează *complexe imune*, reprezentînd una din cauzele „fibrinoidului"; apar pe secțiuni sub forma unui material eozinofil. Ocazional, la locul leziunii poate fi demonstrată și prezența *complementului;*

c) *fibroza progresivă*, caracteristică stadiilor înaintate ale bolii, care duce la distrugerea celulelor specializate ale organului afectat (mixedemul după tiroidită, sialoadenita uscată după boala Siögren, ciroza nodulară după hepatita cronică activă, gastrita atrofică din anemia Biermer, alveolita fibroasă în cazul bolii Hamman-Rich).

3. Prezența unor autoanticorpi demonstrabili față de țesuturile proprii (autoanticorpi antinucleari în lupus, autoanticorpi antitiroideni în tiroidită, factorul reumatoid în artrita reumatoidă, anticorpi anticelule parietale și antifactorul intrinsec în anemia Biermer). Demonstrarea autoanticorpilor are de obicei importanță diagnostică (întocmai ca ureea, creatinina), fiind un indiciu al unei tulburări imunologice mai complexe, dar neavînd totdeauna un potențial agresiv. Astfel, pentru

Scanned with OKEN Scanner

factorul reumatoid și factorul antinuclear, rolul patogen este îndoielnic, lipsind corelația dintre titrul lor și severitatea leziunilor, iar transferul pasiv de ser nu poate produce leziuni specifice. Demonstrarea unor autoanticorpi în titru mic la unele persoane sănătoase — înregistrînd o creștere liniară cu vîrsta la bărbat și un vîrf între 20 și 30 de ani la femeie (corespunzător vîrfului de incidență maximă din bolile autoimune) — micșorează și mai mult semnificația autoanticorpilor.

De altfel, autoanticorpii au fost puși în evidență la animalul de experiență după leziunea tisulară, iar la om după un infarct miocardic sau pulmonar. Deci, autoanticorpii trebuie considerați mai degrabă consecința decît cauza leziunilor tisulare sau martorul unui atac autoimun. Totuși, un titru înalt de autoanticorpi poate avea semnificație patogenică.

4. Decelarea unei hipergammaglobulinemii de tip policlonal, depășind 1,5 g/100 și foarte rar anemia de tip monoclonal (105). Scăderea complementului seric prin fixarea sa pe complexele imune ar oferi o indicație utilă asupra unui proces autoimun.

5. Răspunsul favorabil tranzitoriu sau de durată la corticoizi și mijloace imunodepresive. În tabelul VI sînt prezentate suferințele clinice în care este implicat un mecanism autoimun după criteriul țesutului sau organului afectat.

Bolile autoimune mai pot fi clasificate în două mari categorii: organospecifice și neorganospecifice (110).

Bolile autoimune organospecifice se caracterizează prin leziunea unui organ determinat și prezența *autoanticorpilor specifici de organ și specie*. Cum însă *antigenele specifice de organ* au o localizare intracelulară, accesul autoanticorpilor la aceste antigene e imposibil în caz de membrană celulară intactă. De altfel, în manifestările autoimune experimentale, serul (autoanticorpii) nu a putut determina leziunea tisulară, ci doar imunizarea animalelor cu extracte tisulare homologe sau heterologe încorporate în adjuvant Freund complet.

În condiții autoimune experimentale, atacul asupra organului țintă l-ar opera limfocitele mici sensibilizate la cantități minime de antigene specifice de organ, printr-un mecanism de hipersensibilitate întîrziată, în care inflamația nespecifică are un rol primordial. În acest mod ar putea fi deschis drumul autoanticorpilor spre antigenele specifice de organ. De altfel, în bolile autoimune, celulele specific sensibilizate par a fi elementul agresiv fundamental. Autoanticorpii pot participa sau nu la conflictul imunologic, neavînd neapărat un rol patogen. Evidențierea autoanticorpilor are mai degrabă valoare diagnostică, fiind martorul unei manifestări autoimune (71).

Se presupune că, la om, eliberarea în circulație a antigenelor specifice de organ ar rezulta în urma unei leziuni locale prin infecție virală sau bacteriană, condiția infecțioasă însăși jucînd rolul de adiuvant, întocmai ca adjuvantul Freund în bolile autoimune experimentale. În această categorie sînt incluse: strumita limfomatoasă Hashimoto, hipotiroidia primitivă, tireotoxicoza, gastrita atrofică cronică și atrofia primitivă suprarenală (boala Addison) (110).

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL VI

Principalele afecțiuni în care este implicat un mecanism autoimun

Țesutul conjunctiv	Lupusul eritematos diseminat Artrita reumatoidă Sclerodermia Dermatomiozita Reumatismul Bouillaud-Sokolski Sindromul Sjögren Sindromul Stevens-Johnson Sindromul Becheet Purpura trombopenică trombotică
Vasele	Poliarterita nodoasă Granulomatoza Wegener Arterita temporală Sindromul arcului aortic Purpura Schönlein-Henoch
Mușchii scheletici	Miastenia gravă
Inima	Cardita reumatismală Sindromul postcomisurotomie Infarctul miocardic
Sistemul nervos	Scleroza multiplă Encefalopatia demielinizantă Sindromul Guillain-Barré
Stomacul	Anemia Biermer Gastrita cronică atrofică
Colonul	Colita ulceroasă
Rinichii	Glomerulonefrita acută și cronică Sindromul nefrotic Sindromul Goodpasture
Suprarenala	Boala Addison idiopatică Sindromul Schmidt
Tiroida	Tiroidita Hashimoto Tiroidita subacută de Quervain Tireotoxicoza
Ficatul	Hepatita cronică lupoidă Ciroza biliară primitivă
Elementele figurate ale sîngelui	Anemia hemolitică autoimună Boala aglutininelor reci Sindromul Donath-Landsteiner Purpura trombopenică idiopatică Sindromul Ewans Purpura hiperglobulinemică Neutropenia autoimună Pancitopenia autoimună
Plămînul	Sindromul Hamman-Rich Sindromul de scleroză interstițială difuză (Scadding) Mediastinita fibroasă Infarctul pulmonar Silicoza
Ochiul	Oftalmia simpatică (uveita autoimună)

Scanned with OKEN Scanner

Bolile autoimune neorganospecifice se caracterizează prin leziuni diseminate în organe şi ţesuturi foarte variate şi prezenţa unor autoanticorpi serici lipsiţi de orice specificitate de organ sau specie. Din această categorie fac parte: artrita reumatoidă, lupusul eritematos diseminat, sclerodermia, dermatomiozita şi alte boli ale ţesutului conjunctiv. Deocamdată nici una n-a fost produsă experimental.

În unele situaţii clinice, o boală autoimună organospecifică se asociază cu manifestări autoimune neorganospecifice.

Există şi boli autoimune greu de încadrat în una din aceste două grupe, precum purpura trombopenică idiopatică, anemia hemolitică autoimună, sindromul Sjögren. Ele au totuşi tendinţa să se manifeste în asociere cu alte suferinţe autoimune ale ţesutului conjunctiv (110).

Sindromul Sjögren prezintă o extraordinară diversitate de reacţii autoimune, asemănătoare celor întîlnite în lupus. Pe lîngă inflamaţia cronică a glandelor lacrimale, salivare şi digestive (sialoadenită cronică), bolnavii prezintă autoanticorpi antinucleari, celule LE, factori reumatoizi, autoanticorpi antitiroidieni, autoanticorpi reacţionînd specific cu citoplasma celulelor epiteliale ale glandelor salivare, iar în 50—66% din cazuri există semne clinice de afectare a ţesutului conjunctiv (artrită reumatoidă, lupus). S-au semnalat de asemenea tulburarea transformării limfocitelor la fitohemaglutinină, scăderea hipersensibilităţii tardive la dinitroclorbenzen şi dezvoltarea unor limfoame.

Scanned with OKEN Scanner

6

POSIBILITĂȚILE DE IMUNOSUPRESIE TERAPEUTICĂ A RĂSPUNSULUI IMUN

Obiectivele terapeutice ale imunologiei clinice constau, pe de o parte, în producerea activă sau pasivă a unei imunități dorite (vaccinare ori seroterapie) și, pe de alta, în suprimarea răspunsurilor imune nedorite (imunosupresie).

Lucrarea de față e consacrată *imunosupresiei terapeutice*. Prin aceasta înțelegem o stare provocată prin manevre terapeutice și caracterizată prin *scăderea* capacității unei persoane de a forma anticorpi sau de a elabora reacții mediate prin celule sensibilizate. Din chiar această definiție se poate observa că manevrele așa-zis imunosupresive nu realizează în fond, în schemele folosite actualmente, decît o atenuare a răspunsului imun, adică o *imunodepresie*. Din rațiuni menționate într-un capitol anterior adoptăm și noi termenul de imunosupresie, ca și majoritatea celorlalți autori (vezi 69).

În prezent, în clinică ne stau la dispoziție următoarele mijloace imunosupresive: serul antilimfocitar, drenarea canalului toracic, radioterapia, drogurile imunosupresive, timectomia, splenectomia, administrarea pasivă a anticorpilor specifici.

De acest arsenal terapeutic beneficiază bolile în care e implicat un mecanism autoimun sau un mecanism imunologic de alt tip și transplantarea de organe.

Prin urmare, pentru a recomanda terapia imunosupresivă ar trebui să știm precis, în primul rînd, dacă mecanismul imun demonstrat este cauza sau efectul suferinței și, în al doilea rînd, care sînt antigenele implicate (35).

Imunosupresia își găsește aplicarea majoră în transplantarea țesuturilor și organelor, urmărind realizarea toleranței la antigene de histocompatibilitate; ea e instituită profilactic, înainte ca răspunsul imun (respingerea) să fi început.

Scanned with OKEN Scanner

În bolile autoimune, obiectivul terapeutic constă în realizarea toleranței la antigenele care au inițiat răspunsul autoimun, cu alte cuvinte, în abolirea sau controlarea unui proces deja perfectat.

După Woodruff (1969), imunosupresia poate fi specifică sau nespecifică. Și una, și alta au fost și continuă să fie subiectul unor studii sistematice, atît din cauza interesului științific fundamental, cît și pentru importantele aplicații practice.

Obiectivul ideal al terapiei îl constituie realizarea unei *imunosupresii specifice*, care se obține acționînd, fie la nivelul unui antigen sau al unui grup restrîns de antigene, fie la nivelul anticorpului.

Cea mai rațională atitudine ar fi îndepărtarea antigenului care a inițiat răspunsul imun sau administrarea lui în doze paralizante. Dificultatea constă în imposibilitatea de a avea antigenele în cauză în stare pură, cel puțin deocamdată, deoarece atît în bolile autoimune, cît și în transplante, aceste antigene sînt incomplet cunoscute. De altfel, în cazul antigenelor de histocompatibilitate, îndepărtarea lor ar însemna în fapt distrugerea organului transplantat.

Din toate aceste motive, influențarea antigenului într-un mod oarecare — ceea ce ar fi soluția terapeutică ideală a condițiilor în care operează un mecanism imunologic — e irealizabilă. Procedeul a fost însă practicat cu succes în cazul imunosupresiei experimentale și poartă numele de *toleranță imună specifică* sau *paralizie imunologică*.

În clinică, imunosupresia terapeutică specifică a putut fi aplicată cu succes administrînd mici cantități de anticorpi anti-*D* pentru a preveni izoimunizarea *Rhesus* la femeile Rh negative cu copii Rh pozitivi. Mecanismul de acțiune l-ar constitui cunoscutul proces de inhibiție prin *feedback* a răspunsului imun primar prin imunoglobulinele anticorpice de tip imunoglobulină *G*. Nu se știe dacă anticorpul însuși sau complexele imune antigen-anticorp reprezintă elementul activ în acest proces. Teoretic, procedeul poate fi aplicat și în alte situații. Dezavantajul constă în faptul că influențează numai răspunsul primar, fiind deci utilizabil doar în scop profilactic.

Întrucît paralizia imunologică depinde atît de cantitatea de antigen, cît și de numărul celulelor imunologic competente care trebuie paralizate, rezultă că, micșorînd ultimul, paralizia se poate realiza și la doze mai mici de antigen, întîlnite în condiții naturale.

Împuținarea celulelor imunologic competente prin mijloacele imunosupresive menționate creează deci antigenelor condiția de a deveni paralizante.

Metodele actuale de terapie, prezentate amplu în *Partea a doua* a acestei lucrări, realizează însă, în dozele utilizate obișnuit în clinică, doar o *imunosupresie nespecifică și parțială* (Luca, 1972). Dozele la care se realizează o imunosupresie reală sînt periculoase, avînd și efecte nedorite: infecții cu bacterii și fungi, topire a țesuturilor și îndeosebi a maselor musculare, trombopenie cu manifestări hemoragice, boli neoplazice.

Există unele condiții clinice, ca hipogammaglobulinemia congenitală, agammaglobulinemia de tip elvețian, anemia, sarcina, convalescența anu-

Scanned with OKEN Scanner

mitor boli virale și infecțioase, unele boli maligne ale țesutului limfatic, în care se realizează în mod natural condițiile atenuării nespecifice a unui răspuns anticorpic sau celular.

Se constată un comportament cu totul neobișnuit în ce privește bolile maligne ale sistemului limfatic. Deși se caracterizează prin prezența unei stări de imunosupresie nespecifică naturală în chiar contextul clinic — dovedită prin atenuarea răspunsului anticorpic sau celular la stimuli antigenici exogeni —, ele se asociază frecvent cu manifestări autoimune. Acest aspect a fost discutat în legătură cu pierderea toleranței la *self* (*capitolul 3*).

În clinică, utilizarea mijloacelor imunosupresive amintite se bazează pe o observație empirică, și anume că acest tratament atenuează bolile autoimune sau împiedică respingerea grefei. Dozele folosite în terapia bolilor autoimune sînt adesea homeopatice față de cele care au un cert efect imunosupresiv în experimentul pe animal. În ciuda succeselor obținute în clinica, să nu uităm că nu cunoaștem precis nici schema de desfășurare a răspunsului imun și nici mecanismele prin care își realizează efectele medicația considerată de noi imunosupresivă.

Cu această rezervă considerăm că încercarea de *clasificare fiziopatologică* a mijloacelor de imunosupresie în raport cu dinamica răspunsului imun e utila, necesară și cea mai rațională, cu toate numeroasele fapte neclarificate în acest vast domeniu. O asemenea clasificare creează o bază științifică pentru a utiliza în practică mijloace de imunosupresie și poate fi un stimul al gîndirii creatoare (tabelul VII).

1. *Antigenul* este primul element în declanșarea răspunsului imun. Se poate prezenta ca substanță chimică, medicament, bacterii, virusuri, antigen de histocompatibilitate, iar în bolile autoimune, sub forma *self*-ului alterat sau sechestrat (vezi *capitolul 3*).

Desigur că îndepărtarea sau neutralizarea capacității imunogenice a unui antigen ar fi cea mai rațională metodă de tratament, dar, așa cum s-a mai menționat, acest lucru nu este totdeauna posibil. Evitarea întîlnirii cu o substanță chimică, sistarea unui medicament, hiposensibilizarea în bolile alergice, tratamentul prompt și corect al infecțiilor pot constitui elemente valoroase în întreruperea răspunsului imun (96).

În prezent există date experimentale și clinice care neglijează posibilitatea de a se obține o desensibilizare de durată sau chiar completă în cazul unui răspuns imun celular perfectat, asociind administrarea intravenoasă a antigenului cu cea intradermică în doza și succesiunea strictă. Mecanismul de acțiune al antigenului ar fi prin paralizie imunologică specifică.

Astfel, cobaii cu dermatită de contact la neoarsfenamină au putut fi complet desensibilizați administrîndu-li-se intravenos 60 mg/kilocorp din același antigen, și apoi strict, la 6—48 ore, intradermic, o cantitate mică de antigen de ordinul a 150 micrograme (de Weck, Frey, 1969).

Aceleași rezultate au fost obținute pe cobai în cazul dermatitei de contact la crom (Truk și Polak, 1968). Secvența inoculărilor și dozajul

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL VII

Posibilităţile de imunosupresie a răspunsului autoimun

Etapele răspunsului imun	Influenţa terapeutică
1. Antigenul	Sistarea drogurilor Tratament corect al infecţiilor Tratament atent al maldigestiilor Penicilinaza, dezoxiribonucleaza, razele X Alegere corectă a donatorilor la transplantarea organelor
2. Captarea antigenului de către macrofage	Drogurile imunosupresive Radioterapia Serul antilimfocitar Splenectomia
3. Transferul informaţiei antigenice la limfocitele mici	?
4. Dediferenţierea şi proliferarea limfocitelor mici	Drogurile imunosupresive Radioterapia Splenectomia Serul antilimfocitar Drenarea canalului limfatic Timectomia
5. Diferenţierea imunoblaştilor la plasmocite şi limfocite mici angajate	Serul antilimfocitar Drogurile imunosupresive Radioterapia Splenectomia Drenarea canalului toracic Timectomia Serurile imune specifice

Scanned with OKEN Scanner

CONTINUARE TABELUL VII

Etapele răspunsului imun		Influența terapeutică
6. Mecanismele efectoare	Anafilaxia	Antihistaminicele Cromoglicatul disodic Dietilcarbomazincitratul Bronhodilatatoarele etc. Corticoizii
	Citotoxicitatea	Splenectomia Corticoterapia
	Complexele imune solubile	Glicoproteina din veninul de cobra (anti-C') Factorul din veninul de păianjen (anti-C'_5) Azot-iperita Corticoizii Radioterapia antiinflamatoare
	Hipersensibilitatea întîrziată	Corticoterapia (efect antiinflamator) Drogurile imunosupresive (efect antiinflamator) Radioterapia Serul antilimfocitar Splenectomia Drenarea canalului limfatic Timectomia

au valori critice, nerespectarea lor ducînd la reapariția fenomenelor de hipersensibilitate întîrziată sau la obținerea unei desensibilizări de scurtă durată.

Aceste observații au fost confirmate la pacienți cu micozis fungoid tratați prin aplicații locale cu azot-iperită, și cărora le-a apărut o dermatită de contact la această substanță.

Administrarea intravenoasă a drogului, urmată după două zile de o injecție intradermică, a dus la trei pacienți la o desensibilizare completă, și care s-a dovedit specifică, întrucît sensibilizarea concomitentă la dinitroclorbenzen nu a fost afectată (Waldorf și colab., 1967).

Antigenul implicat în declanșarea suferințelor autoimune nu poate fi influențat deocamdată, deoarece nu cunoaștem antigenul specific incriminat și cum să-l înlăturăm. În viitor, obținerea acestor antigene în stare

Scanned with OKEN Scanner

pură ar putea permite să se provoace adultului o toleranţă prin paralizie imunologică.

Tratarea atentă a tuturor condiţiilor clinice care duc la maldigestii va împiedica absorbţia şi deci contactul cu celulele imunologic competente al antigenelor biliare sau al unor proteine exogene incomplet dezasamblate de enzimele digestive (vezi *capitolul 3*) (15; 18). Astfel, controlul medical atent al tulburărilor de digestie şi absorbţie (uneori discrete şi ignorate) ar putea face inoperantă această largă cale de acces a antigenelor străine la celulele imunologic competente, reprezentată de tubul digestiv.

Distrugerea enzimatică a antigenului în circulaţie e încercată cu ajutorul penicilinazei în alergia penicilinică, sau al dezoxiribonucleazei în cazul antigenelor dezoxiribonucleoproteice. În cazul tireotoxicozei, radiaţiile ionizante ar distruge chiar antigenul care declanşează procesul autoimun (LATS fiind un anticorp).

2. *Captarea antigenului de către macrofage* nu poate fi deocamdată influenţată. Încercările de a bloca sistemul macrofagic prin coloizi simpli sau marcaţi cu izotopi — pentru a produce o iradiere internă celulară — par impracticabile clinic (96), iar folosirea serului antimacrofagic este doar de domeniul experimentului.

Desigur că mijloacele imunosupresive, ca drogurile citotoxice, citostatice, serul antilimfocitar, radioterapia, influenţează această etapă într-o manieră nespecifică. Splenectomia ar putea fi eficace, eliminînd un important teritoriu fagocitar.

3. *Transferul informaţiei antigenice* de la macrofag la limfocitul mic prin intermediul acidului ribonucleic mesager liber şi al acidului ribonucleic legat de imunogen ar putea constitui un punct de atac al imunosupresiei, fie la nivelul acidului ribonucleic, fie la nivelul imunogenului. Deocamdată nu avem la dispoziţie asemenea metode.

4. În imunosupresie, actualmente se pune cel mai puternic accent pe *atacul asupra limfocitelor mici* şi a descendenţilor lor imediaţi, apăruţi în urma procesului de *dediferenţiere şi proliferare*, deoarece pentru această etapă avem cel mai bogat arsenal terapeutic

Mijloacele folosite în acest scop sînt: drogurile citotoxice/citostatice, radioterapia, splenectomia, serul antilimfocitar, drenarea canalului limfatic, timectomia.

Drogurile imunosupresive nu sînt substanţe noi, ci, în cea mai mare parte, medicamente vechi cu efect citotoxic/citostatic, folosite în terapia bolilor neoplazice. Acest efect se datoreşte influenţei exercitate asupra acizilor nucleici (acidul dezoxiribonucleic şi acidul ribonucleic) în diferitele etape ale metabolismului lor. Întrucît celulele neoplazice şi acelea ale sistemului limfatic sînt caracterizate printr-o proliferare celulară rapidă, şi deci un metabolism foarte viu al acizilor nucleici, este uşor de înţeles de ce sînt tocmai celulele respective ţinta drogurilor citotoxice. În această accepţie, imunosupresia nu e decît o manifestare particulară a unui efect citotoxic general (52; 57; 10; 5; 61).

E firesc să ne întrebăm dacă rezultatele bune din neoplazii n-ar fi datorite cumva, nu atît efectului lor citotoxic/citostatic, ci mai degrabă

Scanned with OKEN Scanner

celui imunosupresiv. De aici provine o altă idee de importanţă principială, şi anume a proliferării neoplazice ca expresie a unei tulburări de imunitate.

Fiind lipsite de o strictă specificitate de acţiune, acţionînd într-un grad mai mare sau mai mic asupra tuturor celulelor în diviziune, utilizarea practică a acestor droguri e limitată de numeroase efecte nedorite. De aceea, deşi există multe asemenea substanţe, în terapie se folosesc doar acelea cu efecte secundare mai estompate (azatioprina, ciclofosfamida, cloraminofenul, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, metotrexatul), şi numai pentru scurte perioade de timp. Vor fi prezentate detaliat în *Partea a doua, capitolul 1.*

Drogurile imunosupresive acţionează cu precădere asupra anumitor etape ale *răspunsului imun* (dediferenţiere-proliferare) *primar în perioada inductivă*. Celulele formatoare de anticorpi (plasmocite, limfocite) o dată apărute, imunosupresia e greu de realizat şi numai administrînd drogurile în doze mari. După datele de pînă acum, captarea şi prelucrarea antigenului de către macrofage, ca şi transferul informaţiei, rezistă la supresia chimică, deşi mai sînt necesare studii asupra acestei probleme.

În timp ce răspunsul primar manifestă o mare sensibilitate la drogurile imunosupresive, răspunsul secundar este puţin sau de loc influenţat de ele.

De obicei, nu au un singur punct de atac asupra celulelor, ci afectează funcţii multiple. De exemplu, colchicina şi vincoleucoblastina sînt nu numai antimitotice, ci interferează şi cu sinteza acidului dezoxiribonucleic, iar actinomicina inhibă sinteza acidului ribonucleic mesager, dar şi glicoliza (96).

Cu ajutorul drogurilor imunosupresive s-a realizat o adevărată „disecţie chimică" a perioadei de inducţie în condiţii experimentale (94).

Astfel, asupra limfocitelor mici neangajate acţionează anumiţi agenţi alchilanţi (ciclofosfamida, busulfanul, azot-iperita), împuţinîndu-le. Aceste substanţe au eficacitate în supresarea sintezei anticorpilor dacă sînt date înainte sau concomitent cu antigenul, adică înainte ca acesta să fi stabilit contactul cu limfocitele mici. Administrarea lor la cîteva zile după antigen nu are nici un efect asupra răspunsului imun (Hektoen, citat de Schwartz, 1965).

O etapă ulterioară a răspunsului imun, transformarea limfocitului mic în imunoblast, e blocată de 6-mercaptopurină şi 6-tioguanină. În ce priveşte legătura dintre momentul administrării drogului şi producerea inhibiţiei, rezultă că etapa respectivă are loc probabil la 48 de ore după introducerea antigenului. Administrînd drogurile în doză unică înaintea antigenului, Schwartz şi colab. (1965) au constatat că ele nu scad formarea anticorpilor, pe cînd, dacă sînt date după antigen, pînă în a doua zi, deci în momentul apariţiei imunoblastului, inhibă formarea anticorpilor.

Ultima fază a perioadei inductive, de proliferare-diferenţiere, e blocată de metotrexat.

Înhibînd diviziunile celulare, 5-fluorouracilul şi 5-bromuracilul sînt eficace în toate etapele perioadei inductive.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea, perioada productivă — caracterizată printr-o intensă sinteză de anticorpi și diviziune celulară activă — e puternic inhibată de 5-fluoro- și 5-bromuracil.

Așa cum am menționat, imunosupresia are un efect practic nul asupra răspunsului imun secundar. Schwartz (94) a arătat pe iepure că 6-mercaptopurina în doză de 6 mg/kilocorp, timp de 25 de zile înaintea stimulului secundar, nu a putut împiedica producția anticorpilor, ci doar a întîrziat-o cu patru zile. Aceeași doză administrată după stimulul secundar nu a avut nici un efect asupra formării anticorpilor.

S-a susținut că faza inductivă, celulară, a răspunsului imun ar fi asociată intim cu hipersensibilitatea întîrziată. Borel și Schwartz (citat de 94), sincronizînd adecvat administrarea 6-mercaptopurinei (timp de patru zile) cu etapele răspunsului imun, au reușit să blocheze inducerea unei hipersensibilități tardive la γ-globulina bovină, fără să afecteze cu nimic eliberarea anticorpilor umorali. Deci, hipersensibilitatea tardivă, cu substratul ei morfologic, limfocitele mici angajate, nu ar reprezenta neapărat preludiul sintezei de anticorpi și, deci, fluxul informației imunologice s-ar realiza mai degrabă pe calea mai multor tipuri celulare diferite, decît printr-o singură celulă care suferă un proces de dezvoltare și transformare continuă.

Limfocitele mici sensibilizate, răspunsul anticorpic tip 19 S și răspunsul de tip 7 S au o sensibilitate descrescîndă la 6-mercaptopurină, în ordinea menționată. Metotrexatul are o influență mai puternică asupra răspunsului umoral decît a celuia celular.

Se știe astăzi că în funcție de doză are loc o inhibiție selectivă a mecanismelor imunopatologice. De exemplu, în doze mici, 6-mercaptopurina produce supresia răspunsului de tip tardiv, dozele moderate afectează și sinteza anticorpilor de tip imunoglobulină *G*, iar dozele mari inhibă în plus și producția anticorpilor de tip imunoglobulină *M*.

Metotrexatul și ciclofosfamida împiedică producția anticorpilor din clasa imunoglobulinelor *G*, fără să afecteze formarea anticorpilor de tip imunoglobuline *M* (96). Aceste date impun ideea unor linii celulare implicate în hipersensibilitatea tardivă, în secreția de imunoglobulină *G*, imunoglobulină *M*, cu o sensibilitate diferită la droguri.

Populația celulară interesată în răspunsul imun este eterogenă și în continuă transformare, fiecare avînd o susceptibilitate diferită la drog. Chiar și o aceeași celulă își schimbă sensibilitatea la droguri pe măsură ce se multiplică sau se diferențiază. S-a văzut că fiecare substanță în parte își exercită specific efectul inhibitor asupra unei anumite secvențe a răspunsului imun. Faptul vine în contradicție cu ideea că drogurile ar avea un efect toxic general. Nu se știe dacă această susceptibilitate diferențiată reflectă modificări secvențiale biochimice apărute în cursul dezvoltării unei linii celulare unice sau participarea a diferite linii celulare.

Fiind administrată continuu, o substanță dată își va exercita efectele numai într-un anumit moment al răspunsului imun, dovedind specificitate de acțiune. Administrarea drogului în doză unică e strict legată de un anu-

Scanned with OKEN Scanner

mit moment al răspunsului imun pentru a fi eficace în supresarea lui. De aceea, efectul imunosupresiv al fiecărui drog în parte este funcție de mecanismul său de acțiune, mecanismul administrării, caracterul administrării (continuu, în doză unică) și de doză.

Se presupune că antigenul incriminat în declanșarea lanțului autoimun recrutează o clonă de celule activată la o dediferențiere și o diviziune rapidă. Din cauza metabolismului foarte activ al acidului dezoxiribonucleic și al acidului ribonucleic, aceste celule devin deosebit de sensibile la droguri, în comparație cu clonele vecine neselectate în răspunsul imun. Distrugerea unui anumit număr din celulele imunologic competente angajate creează un nou echilibru, astfel încît antigenul aflat în vecinătatea imediată a celulelor imunologic competente care au supraviețuit drogului imunosupresiv se află într-o cantitate suficient de mare pentru a produce paralizia imunologică, deci toleranța pentru autoantigenul incriminat în autoagresiune. Distrugînd o parte din celulele imunologic competente sau transformîndu-le în celule nefuncționale realizăm autoantigenelor condiția pentru a deveni paralizante, inducem deci toleranța (52; 94). Această teorie, elaborată de Schwartz pentru a explica toleranța imunologică determinată de drogurile imunosupresive, mai trebuie verificată.

Întrucît imunosupresia se exercită asupra unei clone în diviziune activă, sensibilă la droguri, și nu asupra clonelor „hibernante", pericolul unei supresii imunologice totale nu pare serios. De altfel există dovezi experimentale în sensul că imunitatea dobîndită anterior terapiei persistă și după utilizarea drogului (99).

Razele X acționează prin distrugerea celulelor imunologic competente, fie ele angajate sau neangajate imunologic; se cunoaște de altfel marea radiosensibilitate a limfocitelor.

Efectul lor este mai important în perioada inductivă a răspunsului imun primar, adică asupra acelor limfocite mici care încă n-au stabilit contactul cu antigenul (52; 57).

Radioterapia are însă efect imunosupresiv și asupra unui mecanism imunologic perfectat, deci asupra limfocitelor mici angajate, care sînt substratul răspunsului imun secundar, așa cum o demonstrează succesul ei după declanșarea reacției de respingere a homografelor (nu numai profilactic) sau iradierea localizată în cazul bolilor autoimune de organ (tiroidita Hashimoto, miastenia gravă etc.).

De altfel, anumite boli cunoscute abia astăzi ca autoimune au beneficiat de radioterapie înainte de a i se fi observat efectul imunosupresiv (93; 50).

Nu trebuie minimalizată acțiunea antiinflamatoare nespecifică a razelor X, care pot atenua efectul mecanismelor efectoare ale reacțiilor imune, deși celulele participante la acest proces (polimorfonucleare, monocite, macrofagele în general) sînt mai puțin radiosensibile decît limfocitele mici (7).

Splenectomia are efect imunosupresiv atît îndepărtînd numeroase celule imunologic competente, cît și suprimînd un important focar

Scanned with OKEN Scanner

de fagocitoză și citoliză (10), îndeosebi în cazul citopeniilor autoimune. Nu trebuie uitat că splina e o sursă de limfocite mici sensibilizate, responsabile de agresiunea imunologică mediată de celule, atît în bolile autoimune, cît și în respingerea homografelor.

Splenectomia se practică astăzi și în cazul homotransplantelor de organe, cu efect favorabil îndeosebi în prelungirea supraviețuirii celui de-al doilea transplant (de exemplu, de rinichi).

Serul antilimfocitar și globulinele antilimfocitare sînt cei mai puternici agenți imunosupresivi cunoscuți. Își exercită efectul în mod special asupra răspunsurilor imune mediate de celule și mai puțin asupra celor mediate de anticorpii umorali (63).

Serul antilimfocitar acționează predominant asupra limfocitelor mici angajate și neangajate (deci atît în răspunsul primar, cît și în cel secundar), dar și asupra limfocitelor mici cu viață scurtă, incompetente imunologic (98). Caracterul său fundamental, propriu tuturor anticorpilor, ar trebui să fie specificitatea. Deoarece limfocitul mic are antigene comune cu alte celule, ca fibroblaștii, celulele epidermice etc., acțiunea sa se extinde și asupra acestora. De altfel, serul antilimfocitar scade și activitatea fagocitară a sistemului reticulo-histiocitar, afectînd selectiv fagocitoza hepatică (nu și aceea splenică sau pulmonară) prin acțiune citotoxică pe macrofage (89). Deocamdată nu știm precis căror anticorpi își datorează efectul serul antilimfocitar: celor îndreptați spre limfocitele mici sau celor îndreptați spre alte celule.

Actualmente, serul antilimfocitar e folosit cu precădere în transplantarea organelor. Există însă tendința de a-l utiliza și în bolile autoimune.

Drenarea canalului limfatic participă la supresarea răspunsului imun prin împuținarea celulelor imunologic competente angajate și neangajate, reducerea masei de țesut limfoid și poate chiar sărăcind umorile în autoanticorpi.

Timectomia — practicată la nou-născut în experiențele pe animale — a dus la o importantă scădere a limfocitelor mici din *pool*-ul circulant și din ariile timodependente, cu o depresare a imunității mediate de celule. Reacțiile mediate de anticorpii umorali sînt mult mai puțin afectate. La animalul adult, timectomia are efecte mult mai atenuate și care apar tardiv față de momentul intervenției. La om, timectomia se practică în cîteva afecțiuni în care intervine un mecanism autoimun: miastenia gravă, anemia aplastică, agammaglobulinemia dobîndită, anemia hemolitică autoimună, purpura hiperglobulinemică, lupusul.

Aceste mijloace de imunosupresie vor fi prezentate detaliat în *Partea a doua* a lucrării.

5. *Diferențierea imunoblaștilor* spre limfocite mici angajate, purtătoare ale memoriei imunologice, și plasmocite secretante de anticorpi e însoțită de o *scădere a sensibilității* acestor celule la agenții imunosupresivi menționați (droguri imunosupresive, radioterapie, splenectomie, ser antilimfocitar, drenarea canalului limfatic, timectomie). Limfocitele mici angajate își păstrează însă sensibilitatea la serul antilimfocitar.

Scanned with OKEN Scanner

De aceea, în cazul bolilor autoimune aflate în stadiul unui răspuns imun celular și anticorpic deja perfectat, e foarte dificil de realizat toleranța.

În acest moment se internează de obicei bolnavii cu suferințe autoimune. Deși sînt folosite toate mijloacele menționate, eficacitatea lor e mai mică, necesitînd o posologie crescută, uneori cu risc de efecte toxice. În acest moment, blocarea mecanismelor efectoare e urmată de succes.

Lucrînd pe iepuri imunizați cu imunoglobulină umană și tratați cu sen anti-*Fab* sau anti-*Fc*, Corottini și colab. (1969) au demonstrat experimental — în cursul imunizării primare cu antigen proteic — că injectînd intravenos anticorpi îndreptați împotriva unui grup de determinanți antigenici de pe moleculă se constată un efect imunosupresiv în ce privește formarea anticorpilor la acești determinanți, fără să fie afectat răspunsul imun la alt grup de determinanți antigenici prezenți pe aceeași moleculă.

Efectul imunosupresiv specific al anticorpilor administrați pasiv e evident în prima lună după injectarea anticorpilor și scade în a cincea săptămînă, cînd apar progresiv anticorpi la determinanții inițial blocați. Ei nu mai ating titrurile mari prezentate de animalele netratate astfel, ceea ce s-ar explica prin faptul că antigenul încorporat în adjuvantul Freund este eliberat lent din depozitul injectat chiar după o perioadă de o lună, moment în care titrul anticorpilor administrați pasiv scade prin catabolizare.

Din cele de mai sus reiese că administrarea pasivă a anticorpilor nu implică neutralizarea întregii molecule de antigen, ci numai a determinanților cu care reacționează specific.

S-a putut arăta totuși că, injectînd unor cobai complexe imune alcătuite din imunoglobulină *G* de om și anticorpi de iepure anti-*Fab* sau anti-*Fc*, apar anticorpi serici, atît la fragmentul *Fab* cît și la cel *Fc* (51). Pentru a explica această neconcordanță s-a presupus că mecanismul imunosupresiv ar putea să difere după administrarea complexelor antigen-anticorp de imunosupresia determinată de injectarea intravenoasă a unor anticorpi izolați.

S-a constatat că inhibiția e mai puternică dacă anticorpul administrat are același alotip ca și imunoglobulina receptorului și mai slabă cînd anticorpul aparține altui alotip.

De asemenea, inhibiția prin anticorpi de tip 7 S e mai puternică decît a celor de tip 19 S.

Această acțiune a anticorpilor a fost atribuită combinării lor cu antigene legate de celule, privînd astfel celula de excesul de antigen care constituie stimulul pentru formarea anticorpilor.

Pe lîngă importanța practică a acestui fenomen în imunosupresia specifică, deja menționată în legătură cu profilaxia izoimunizării Rh, el are și o fundamentală însemnătate teoretică, indicînd rolul anticorpilor produși activ în limitarea sintezei ulterioare de anticorpi prin interacțiunea lor cu antigenul.

Scanned with OKEN Scanner

6. Controlul mecanismelor efectoare. Deoarece, în cazul bolilor autoimune, etapele inițiale ale răspunsului autoimun sînt depășite în momentul în care bolnavul se adresează medicului, ne aflăm de obicei în situația de a antagoniza mecanismele efectoare — ultima etapă a agresiunii imunologice.

Anafilaxia are ca mecanisme efectoare mediatori chimici: histamina, substanța lent reactivă, serotonina, bradikinina.

Histamina e antagonizată de drogurile antihistaminice, acțiunea nefiind strict specifică. Efectele lor anestezice locale, de tip atropinic, capacitatea de a antagoniza 5-hidroxitriptamina și de a reduce tonusul în anumite preparate de mușchi netezi ar putea fi responsabile de multe ameliorări clinice (75).

Nu se cunoaște nici un drog cu efect inhibitor specific asupra substanței lent reactive. Acțiunea ei e interferată de agenți antigranulocitari (azot-iperita și serul antigranulocitar), de citratul de dietilcarbazim (hetrazon) și de cromoglicatul disodic (intal). Fără să fie un antagonist specific al substanței lent reactive sau al histaminei, cromoglicatul inhibă doar eliberarea lor din plămînul sensibilizat. De aceea a și început să fie utilizat în tratamentul astmului bronșic extrinsec (85).

Fără a fi antagoniști specifici sau foarte activi ai substanței lent reactive, bronhodilatatoarele, homoclorciclizina, acidul flufenamic și ionii de calciu *in vitro* au un efect util în atenuarea acțiunilor farmacologice ale acestui mediator.

Pentru a obține efecte terapeutice favorabile trebuie antagonizat însă fiecare mediator cunoscut că participă la proces. Cum pentru ceilalți mediatori nu dispunem de antagoniști specifici, nu ne putem aștepta ca substanțele aflate la dispoziție să corecteze toate manifestările clinice ale reacției analifactice.

Citoliza are ca celule efectoare fagocitele mononucleare și macrofagele. Ele sînt extrem de greu supresate prin droguri sau radioterapie. Splenectomia intervine probabil tocmai prin îndepărtarea chirurgicală a unei părți din aceste celule. Cum asemenea fagocite se găsesc și în alte teritorii, splenectomia nu e totdeauna eficientă.

Acesta pare a fi cel puțin unul din mecanismele prin care splenectomia își exercită efectul favorabil în cazul citopeniilor imunologice. Corticoizii intervin probabil prin interferența cu mecanismele fagocitare (96; 57).

Complexele imune solubile își exercită efectul lezional prin intermediul sistemului complementului și granulocitelor polimorfonucleare. Sistemul complementului este influențat la nivelul fracțiunii sale C_3' printr-o glicoproteină extractibilă din veninul de cobră; împreună cu o β-globulină a serului, aceasta constituie o enzimă activă, provocînd o depleție a fracțiunii C_5' printr-un factor conținut în veninul de păianjen. Fiind însă foarte toxic, ultimul nu poate fi folosit *in vivo*. Utilizarea clinică a acestor factori proveniți din veninuri e limitată de antigenitatea lor (96).

Scanned with OKEN Scanner

Polimorfonuclearele pot fi distruse cu azot-iperită, dar sînt influențate și de corticoizi. Glucocorticoizii nu acționează ca substanțe imunosupresive, ci ca droguri cu efect antiimflamator nespecific: inhibă aderența polimorfonuclearelor la endoteliul vascular alterat; stabilizează membranele lizozomale la acțiunea a diferiți agenți, oprind eliberarea enzimelor hidrolitice (109; 108); împiedică tranzitul complexelor imune prin pereții anselor glomerulare (32; 56; 57).

La om, acțiunea imunosupresivă a corticoizilor nu a fost demonstrată convingător, deși sînt folosiți aproape universal în bolile avînd implicat un mecanism autoimun.

Limfocitele mici ale omului, cobaiului și maimuței sînt insensibile la corticoizi. Numai la anumite specii (iepure, șobolan și șoarece), dozele mari, toxice, produc limfopenie și o pronunțată împuținare a limfocitelor în organele limfoide, avînd deci un efect imunosupresiv. Corticoizii atenuează atît răspunsul primar, cît și cel secundar; dar, ca și razele X, au în imunosupresie un efect optim fiind administrați înainte sau concomitent cu antigenul; se constată însă un rezultat favorabil și în procese autoimune deja instalate, grație acțiunii lor antiinflamatoare nespecifice (78).

La om, dozele terapeutice nu par să influențeze răspunsul anticorpic, producînd doar o limfopenie tranzitorie. Dozele mari scad pentru perioade îndelungate numărul limfocitelor, și astfel ar putea diminua răspunsul imun. Nu trebuie omis rolul antiinflamator al razelor X administrate local.

Hipersensibilitatea de tip întîrziat are ca elemente efectoare celulele mononucleare nesensibilizate și, în mai mică măsură, limfocitele mici sensibilizate specific. Ele își exercită potențialul agresiv atît ca celule imunologic competente (limfocitele mici), cît, mai ales, ca celule inflamatoare nespecifice (restul mononuclearelor nesensibilizate).

Se poate observa astfel că, exceptînd anafilaxia, restul mecanismelor efectoare ale agresiunii imunologice presupun — pentru exprimarea clinică — și participarea celulelor inflamatoare. De altfel, fenomenele imunopatologice sînt totdeauna mai mult sau mai puțin însoțite de procese inflamatoare.

De aceea, corticoterapia și drogurile imunosupresive au și aici un rol important ca terapie antiinflamatoare nespecifică (83). Celelalte mijloace imunosupresive, ca serul antilimfocitar, radioterapia, splenectomia, timectomia, drenarea canalului limfatic toracic, sînt folosite cu succes în terapia fenomenului de respingere a homogrefelor. Se preconizează introducerea lor în arsenalul terapeutic al bolilor autoimune.

Am menționat mai sus rolul factorului de permeabilitate ganglionar în perfectarea reacției de hipersensibilitate întîrziată. Indometacinul pare să fie un puternic inhibitor al acestui factor, dar și al unei enzime (kalicreină), semnalînd poate un efect de tip enzimatic al factorului de permeabilitate ganglionar.

Scanned with OKEN Scanner

Ca principiu terapeutic general, mijloacele imunosupresive vor fi asociate, spre a mări șansele de a influența cît mai multe verigi ale lanțului autoimun și a reduce efectele secundare, administrînd doze mai mici.

Deocamdată, ca mijloc terapeutic al suferințelor autoimune, imunosupresia e practicată timid, fiind continuu grevată de apariția efectelor secundare, mai periculoase decît boala însăși. Medicația imunosupresivă va fi prescrisă numai în situații extreme, cînd mijloacele clasice sînt ineficiente sau contraindicate.

Deși s-au notat rezultate încurajatoare în bolile autoimune, n-a fost demonstrată eficacitatea imunosupresiei pe un mare număr de cazuri și perioade mai lungi. S-a constatat că se obțin asemenea rezultate cu doze mai mici decît cele antileucemice uzuale. Au fost raportate și situații de vindecare definitivă a anumitor boli autoimune, printr-o scurtă cură cu antipurinice, ceea ce sugerează că toleranța la antigene autologe poate fi redobîndită prin antimetaboliți.

Deși rațională, instituirea unei imunosupresii în bolile atopice e neavantajoasă, întrucît inconvenientele tratamentului sînt mai mari și mai grave decît boala însăși.

Profilaxia bolilor autoimune. Este bine cunoscută incidența familială a bolilor autoimune, pledînd pentru o susceptibilitate particulară (de obicei la femei tinere) de a prezenta asemenea manifestări. Identificînd substratul respectivei predispoziții genetice am obține — lucru deocamdată imposibil — baze pentru depistarea subiecților încă neafectați de boală, dar cu un important factor de risc, adică un criteriu de orientare profilactică. Singura acțiune cu putință în acest sens constă în prevenirea factorilor de mediu reputați că provoacă manifestări autoimune (infecții microbiene, virale, droguri etc.).

BIBLIOGRAFIE

1. *Andreas* (1969) — Immune complexes and autoimmune diseases. *Vox sang*, 16/4—5, p. 345.
2. *Askonas B. A., Rhodes J. M.* (1969) — Proc. Symp. molecular and cellular basis of antibody formation. Praga, iunie 1964, p. 503.
3. *Austen F. K.* (1965) — Anaphylaxis: Systemic, local, cutaneous and in vitro. The inflamatory process. Ed. Zweifach B. W., Grant L., McCluskey R. T,. p. 587. New York, Academic Press.
4. *Berceanu Șt., Gociu Maria, Grozea P.* (1967) — Sistemul reticulo-endotelial. Ed. medicală, București, p. 299.
5. *Berenbaum M. C.* — Immunosuppressive agents. *Proc. roy. Soc. Med.*, 1967, 60, 125.
6. *Billingham R. E., Silvers W. K.* (1965) — Immunological aspects of tissue transplantation, *in*: Immunological Diseases, cap. 13, p. 172. Ed. Max Samter, Boston, Little, Brown & Co.
7. *Bîrzu I., Necula V.* — Radioterapia. Limforeticulohemoblastoze. Ed. medicală, București, 1970.
8. *Brocklehurst W. E.* (1968) — Pharmacological mediators of hypersensitivity reactions, *in*: Clinical aspects of immunology. Ed. Gell P. G. H. and Coombs R. R. A., p. 611. Blockwell Scientific Publ., Oxford and Edinburgh.

Scanned with OKEN Scanner

9. *Bruckner I., Matei I.* (1966) — Limfocitul și rolul său în organism. *Doc. Haemat.*, 2, p. 21.
10. *Bruckner I., Berceanu Șt.* (1969) — Bazele biologice, indicația și limitele terapiei tulburărilor de imunitate. *Med. internă*, 21/6, p. 645.
11. *Burnet N.* (1969) — Cellular Immunology (books I and II). Melbourne University Press, Cambridge Univ. Press.
12. *Cerottini Jean C., Patricia J. McCondhey, F. I. Dixon* (1969) — Specificity of the immunosuppression caused by passive administration of antibody. *J. Immunol.*, 103, 2, p. 268.
13. *Chișiu N. Șt.* (1965) — Constituenți antigenici proprii și de origine sanguină în bila hepatică și veziculară umană. *Stud. Cerc. Biochim.*, 8, p. 427.
14. *Chișiu N. Șt.* (1966 *a*) — Constituants antigéniques propres et d'origine sanguine dans la bile hépatique et vésiculaire humaine. Étude immuno-électrophoretique. *Rev. Roum. Biochim.*, 3/2, p. 207.
15. *Chișiu N. Șt.* (1966 *c*) — Steatoză hepatică, icter și ciroză indusă experimental la iepure prin regim colesterolic și grăsimi. Comunicare U. S. S. M. — Soc. de Nutriție, București, 8 februarie 1966.
16. *Chișiu N. Șt.* (1968 *a*) — Prezența unor componente antigenice specifice în bila de iepure și apariția acestor substanțe în serul sanguin, în cursul icterului colostatic. *Stud. Cerc. Med. Int.*, 9, p. 553.
17. *Chișiu N. Șt.* (1968 *b*) — Studiu imunochimic comparativ al Ig*A* din colostru, bilă și din serul sanguin de iepure. *Stud. Cerc. Biochim.*, 11, p. 11.
18. *Chișiu N. Șt.* (1968 *c*) — Aspects morphologiques suggérant la modalité de transfert (absorbtion) de quelques proteines dans l'intestin du rat adulte. *Rev. Roum. de Méd. Int.*, 5, p. 65.
19. *Chișiu N. Șt.* (1969) — Un composant spécifique biliaire identique du point de vue antigénique chez le cercopithecus et chez l'homme. Corrélations avec la pathologie hépatique. *Rev. Roum. Biochimie*, 6, p. 7.
20. *Chișiu N. Șt.* (1970 *b*) — Étude morphologique et immunochimique de la cholestase intrahépatique dans l'ictère expérimental (nutritional) du lapin. *Rev. Roum. Méd. Int.*, vol. 8, nr. 4.
21. *Chișiu N. Șt.* (1970 *d*) — Noi clase de imunoglobuline în secreția lacrimală și în bila de iepure. *Stud. Cerc. Med. Int., 11*, 1, p. 75.
22. *Chișiu N. Șt.* (1970 *f*) — Le jeûne hibernal et la physiologie digestive: transfert des proteines alimentaires dans la circulation sanguine chez la chauve-souris. Regional congress of the international union of physiological sciences. Brașov, România, 1970.
23. *Coombs R. R. A., Coombs A. M., Ingram D. G.* (1961) — The serology of conglutination and its relation to disease. Oxford, Blackwell, 216 p.
24. *Coombs R. R. A., Gell P. G. H.* (1968) — Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensivity and disease. Clinical aspects of immunology. Ed. Gell P. G. H. and Coombs R. R. A., 317 p. Blackwell Scientific Publ., Oxford and Edinburgh.
25. *Coombs R. R. A.* (1969) — Types fondamentaux d'affections engendrant des réactions allergiques. *Triangle*, 9/2, p. 43.
26. *Dameshek W., Schwartz R. S.* (1959) — Leukemia and auto-immunisation; some possible relationships. *Blood*, 14, p. 1 151.
27. *Dameshek W.* (1967) — Chronic lymphocytic leukemia; an accumulative disease of immunologically incompetent lymphocytes. *Blood*, XXIX/4, part. II, p. 566.
28. *Diener E., Nossal G. J. V.* (1966) — Phylogenetic studies on the immune response. I.Localisation of antigen and immune response in the toad Bufo marinus. *Immunology*, 10, p. 535.
29. *Dixon F. J.* (1968) — The pathogenesis of glomerulonephritis. *Amer. J. Med.*, 44/4, p. 493.
30. *Dixon F. J., McConahey P. J.* (1963) — Enchancement of antibody formation by whole body radiation. *J. Exp. Med.*, 117 : 833.
31. *East June* (1969) — Viruses and autoimmunity. *Vox sang.*, 16/4—5, p. 318.

Scanned with OKEN Scanner

79. *Moraru I., Cotuţiu C., Streja D., Chişiu N.* (1967) — The neoductuli in the rabbit liver with dietary experimental icterogenic steatosis (Chişiu type) — Histochemical and histoenzimatic study. *Acta histochem.*, 28, p. 197.
80. *Moraru I., Şulică A.* (1969) — Recunoaşterea imunologică şi mecanismele prin care se realizează. Progrese recente în disciplinele imunologice. Ed. medicală, Bucureşti, p. 93.
81. *Nestorescu N., Ghyka Gr.* (1969) — Rolul acizilor nucleici în imunitate. Progrese recente în disciplinele imunologice. Ed. medicală, Bucureşti, p. 30.
82. *Nossal G. J. V.* (1965) — Self-recognition. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1965, vol. 124, p. 37.
83. *Page A. R., Condie R. M., Good R. A.* (1962) — Effect of 6-mercaptopurine on inflamation. *Am. J. Path.*, 40, p. 519.
84. *Păun R.* (1961) — Sindromul de malabsorbţie. Probleme de actualitate în medicină. Ed. medicală, Bucureşti, p. 159.
85. *Păun R., Popescu I. Gr.* (1969) — Imunoalergie. Progrese recente în medicina internă, p. 172.
86. *Păun R., Luca N., Luca Rodica* (1969) — Funcţia imunologică a timusului. *Med. Int.*, 21/6, p. 659.
87. *Perlmann P.* (1969) — Bacteria and autoimmunity. *Vox Sang.*, 16/4—5, p. 314.
88. *Petreanu T.* (1967) — Studiu privind absorbţia de proteine heterologe din intestin în diverse stări clinice. Testul imunochimic de malabsorbţie Chişiu. *Clujul medical*, XLII, p. 337.
89. *Pisano J. C., Patterson J. T., Luzino N.* (1969) — Depression of phagocytic activity of reticuloendothelial system by antilymphocytic serum. *Proc. Soc. Exp. Biol. med.*, 132, p. 517.
90. *Raffel Sidney* (1965) — Delayed (cellular) hypersensitivity. Immunological Diseases. Ed. Max Samter, p. 146. Little, Brown & Co., Boston.
91. *Roitt I. M.* (1969) — Humoral immunity and autoimmune disease. *Vox Sang.*, 16/4—5, p. 341.
92. *Rowley D. A., Fitch F. W.* (1964) — Homeostatis of antibody formation in the adult rat. *J. Exp. Med.*, 120, p. 987.
93. *Santagada A.* (1962) — Roentgen treatment of the thymus according to Bollini's technic in pseudoparalitic myastenia gravis. Clinical results in 19 cases. *Radiol. med. (Torino)*, 48, 966.
94. *Schwartz R. S.* (1965) — Immunosuppressive drugs. *Progr. Allergy* 9, p. 246. Karger, Basel/New York.
95. *Schwartz R. S.* (1969 *a*) — Chronic allogeneic disease as a model of autoimmunity and malignancy. *Vox Sang.*, 16/4—5, p. 325.
96. *Schwartz R. S.* (1969) — Therapeutic strategy in clinical immunology. *New Engl. J. of Med.*, 280/7, p. 367.
97. *Stanworth D. R.* (1969) — The structural basis of reagin reactivity. Symposium on clinical immunology and meeting of the European Academy of Allergology, p. 11. Genève, 2—5 oct. 1960, Ed. Med. et. Hyg., Genève.
98. *Starzl T. E.* (1968) — Heterologous antilymphocyte globulin. *New Engl. J. of Med.*, 279/13, p. 700.
99. *Sussman M.* (1967) — Azathioprine in refractary idiopatic thrombocytopenic purpura. *J. A. M. A.*, 202/4, p. 111.
100. *Turk J. L.* (1966) — Die Immunreaktion vom verzögerten Typ und ihre Bedeutung in der Medizin. *Triangle*, 7, p. 275.
101. *Turk J. L.* (1969) — Cellular immunity and autoimmune diseases. *Vox Sang.*, 16/4—5, p. 338.
102. *Uhr I. W.* (1965) — Delayed hypersensitivity in man. Immunological Diseases. Ed. Max Samter, p. 305.
103. *Vazquez I. J.* (1964) — Kinetics of proliferation of antibody forming celles. The thymus in immunology, structure, function and role in disease. Ed. Good R. A., Gabrielsen A. E., cap. 16.

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA A II-A

MIJLOACELE IMUNOSUPRESIVE

Scanned with OKEN Scanner

GENERALITĂȚI

Mijloacele imunosupresive de care dispunem astăzi sînt numeroase, însă incidentele și accidentele pe care le provoacă cer multă prudență, limitîndu-le considerabil sfera de activitate. Clinicianul care prescrie asemenea tratamente trebuie să cunoască amănunțit fiecare mijloc imunosupresiv, sub toate aspectele: indicații, contraindicații, mecanism de acțiune, limite, dozaj, tehnică terapeutică etc.

Aceasta este cu atît mai valabil cu cît, pînă la ora actuală, nu dispunem de un imunosupresor ideal. Referindu-se la transplantele de organe, F. di Mezza consideră că imunosupresorul ideal ar trebui (82):

1. să fie activ și netoxic, chiar dacă necesitățile clinice impun creșterea posologiei și prelungirea tratamentului;

2. să blocheze selectiv reacția imunitară de tip celular provocată de antigenele tisulare, împiedicînd sau atenuînd astfel procesele care duc la respingerea transplantului (reacția gazdei împotriva transplantului) și la leziunile tisulare din bolile autoimune;

3. să suprime simultan orice eventuală reacție a transplantului contra gazdei;

4. să aibă eficiență terapeutică definitivă, și nu temporară, permițînd astfel sistarea imunosupresorului fără riscul de a apărea reacții ale gazdei împotriva transplantului, și invers.

Mecanisme de acțiune. Mijloacele farmacologice sau de altă natură folosite pentru profilaxia sau terapia tulburărilor generate de transplantele de organe, precum și pentru terapia bolilor autoimune, pot acționa pe diferite verigi ale procesului imunitar.

Modalitățile prin care intervin ele sînt diferite; în esență ar consta în:

a) denaturarea sau distrugerea antigenului, împiedicînd declanșarea reacției sau a ripostelor imunitare obișnuite, deoarece limfocitele și anti-

Scanned with OKEN Scanner

corpii specifici liberi nu au capacitatea să recunoască, să vină în contact sau să reacționeze cu antigenele care i-au format;

b) blocarea sistemului reticulo-histiocitar și a activității fagocitare a macrofagelor, fiind inhibate astfel recunoașterea, fagocitarea și digerarea antigenului;

c) inhibarea sau distrugerea pînă la atrofie a sistemului timico-limfatic, fiind blocate astfel:

— afluxul limfocitelor mici în jurul histiocitelor încărcate deja cu antigen;

— transmiterea informației specifice sau a unei particule de antigen de la histiocite la limfocite;

— proliferarea intensă a limfocitelor mici informate;

— dediferențierea limfocitelor în imunoblaști și rediferențierea lor potrivit liniei limfoblasto-limfocitare sau plasmoblasto-plasmocitare;

— sinteza proteică a anticorpilor de către plasmocite și alte imunocite imunoglobulinogenetice;

d) inhibarea reacției antigen-anticorp, inactivînd anticorpul, antigenul sau complementul;

e) distrugerea sau denaturarea țintei la care caută să ajungă limfocitele, monocitele, histiocitele, granulocitele și anticorpii citofili pentru a desăvîrși riposta defensivă împotriva mozaicului de antigene, reprezentat de organul transplantat sau de cauza bolii autoimune (această țintă cuprinde receptorii celulari pentru anticorpii citofili, formați din lipoproteine nespecifice);

f) blocarea infiltrației limfocitare, monocitare, histiocitare și granulocitare a țesutului sau organului, care reprezintă cauza primă și predominantă a reacției imunitare;

g) atenuarea sau suprimarea fagocitozei și a proceselor enzimatice care provoacă eliberarea mediatorilor chimici responsabili de inflamația reactivă;

h) atenuarea sau suprimarea altor fenomene terminale care contribuie la respingerea transplantelor sau la afectarea organului ori țesutului care provoacă boala autoimună.

Acționînd în diferite etape ale răspunsului imun, există totuși o anumită verigă unde eficiența imunosupresorului respectiv este maximă.

În practică se aplică de obicei concomitent mai multe mijloace imunosupresive, pentru suprimarea răspunsului imun într-o anumită verigă sau la mai multe etape, așa cum rezultă din tabelul VII. Principalele droguri imunosupresive, caracteristicile și posologia lor sînt prezentate în tabelul VIII.

C l a s i f i c a r e. Clasificarea mijloacelor imunosupresive variază după autori. Medawar încadrează agenții imunosupresivi în nouă clase, după cum urmează (75):

1. Antigenele (toleranță imunitară, paralizie imunitară)
2. Anticorpii (acționînd prin „înhămare" sau facilitare, proces demonstrat mai ales pentru grefele de tumori)

Scanned with OKEN Scanner

Grupa	Clasa	Substanța	Prezentare	Doza unică	Calea
Antimetaboliți	Antifolice	metotrexat	tablete 2,5 mg fiole a 5 mg 50 mg	2,5—5 mg sau 3 mg/m²/zi per os	per os intravenos intrarahidia
	Antipurinice	6-mercapto-purină	tablete a 50 mg	2,5 mg/kilocorp sau 90 mg/m²/zi	per os
		azatioprin (imuran)	tablete a 50 mg	3—5 mg/kilocorp	per os
	Anti-pirimidinice	fluorouracil	fiole a 250 mg	15 mg kilocorp/zi 5 zile	i.v., perfu
		citozin-arabinozid	fiole	10—30 mg/m²/zi	i.v., perfu
Agenți alchilanți	Cloretilamine	azot-iperită (cariolizine)	flacoane cu 10 mg substanță activă	0,4 mg/kilocorp	i.v.
		mitromin (milomen)	fiole a 50 mg	50—100 mg	i.v.
		sinalost ([illegible]metin)	fiole	2—3 mg	i.v.
		ciclofosfamidă (endoxan)	fiole a 100 și 200 mg tablete a 50 mg	100 mg inițial apoi 200 mg	i.v. per os
		clorambucil (CB 1348) (leukeran)	tablete a 2 mg	8—12 mg (0,1 mg/kilocorp)	per os
		alkeran (melfalan)	tablete a 2 mg	10—14 mg/zi	per os
	derivați ai acidului sulfanic	busulfan (mileran)	tablete a 2 mg	0,5—6 mg/zi	per os
	derivați ai metil-hidrazinei	natulan	capsule a 50 și 100 mg fiole a 250 mg	250 mg sau 100—200 mg/m²	i.v. per os
Alcaloizi vegetali antimitotici	—	vincristină	fiole a 1 și 5 mg	2 mg/m²/săptămînă	i.v.
	—	vinblastină	fiole a 10 mg	0,1—0,3 mg/kilocorp/săptămînă	i.v.
Antibiotice antimitotice	—	actinomicină D	fiole	10—15 μg kilocorp/zi	i.v. per os

Scanned with OKEN Scanner

Principalele droguri imunosupresive: caracteristici, posologie

Mersul de administrare				Absorbție — Metabolism — Excreție			
Doza unică	Calea	Interval	Doza totală pe serie	Absorbție	Difuziune în lichide	Metabolizare	Excre
3—5 mg sau 1 mg/m²/zi per os	per os intravenos intrarahidian	zilnic	110—114 mg	gastro-intestinală totală	50% se leagă de proteine minimă în LCR și encefal	nu	70% în
5 mg/kilocorp sau 0 mg/m²/zi	per os	zilnic	cură prelungită	gastro-intestinală completă	moderată în LCR și encefal	50—90% în nucleotidele respective și acid tiouric	60% în 24 de
-5 mg/kilocorp	per os	zilnic	cură prelungită	gastro-intestinală completă și rapidă	moderată în LCR	în purină și imidazol sulfurat	50—80% 12 ore
mg/kilocorp/zi zile	i.v., perfuzie	5 zile zilnic apoi la interval de 3 zile	cură prelungită până la apariția fenomenelor toxice	gastro-intestinală completă	minimă în LCR și encefal	extinsă în nucleotidele respective și produse inactive; încorporare în ARN	60—80% 24 de
-30 mg/m²/zi	i.v., perfuzie	zilnic	cură de 18—20 de zile	gastro-intestinală incompletă	ridicată în LCR și encefal	extensivă în nucleotidele respective și în uracilarabinozid	sub 10%
mg/kilocorp	i.v.	la 2—3 zile	30—50 mg	gastro-intestinală variabilă		intensă	idem
—100 mg	i.v.	zilnic	1 000—1 500 mg	—	—	idem	idem
-3 mg	i.v.	zilnic	25—30 mg	—	—	idem	idem
0 mg inițial apoi 00 mg	i.v. per os	zilnic	4—8 g	gastro-intestinală completă	rapidă în LCR și encefal	intensă în prima oră	rapidă
-12 mg ,1 mg/kilocorp)	per os	zilnic	0,4—0,5 g	gastro-intestinală completă	idem	idem	idem
-14 mg/zi	per os	zilnic	cură prelungită cu 2 mg/zi	gastro-intestinală completă	rapidă		
-6 mg/zi	per os	zilnic	cură prelungită	gastro-intestinală rapidă, incompletă	rapidă în LCR și encefal	intensă în prima oră	10—15% metab
mg sau 100— 0 mg/m²	i.v. per os	zilnic	10—20 g	gastro-intestinală totală	moderată în LCR și encefal	20—50%	30—60
mg/m²/săptămînă	i.v.	la 7 zile	13—14 mg	gastro-intestinală slabă	minimă în LCR și encefal	—	parția
—6,3 mg/kilocorp/săptămînă	i.v.	la 7 zile	22—234 mg	idem	idem	—	idem
-15 µg kilocorp/zi	i.v. perfuzie	la 15 zile	8 000 µg	idem	—	minimă	intens

TABELUL VIII

Absorbţie — Metabolism — Excreţie					
Absorbţie	Difuziune în lichide	Metabolizare	Excreţie urinară	Mecanism de acţiune	Efecte secundare
...tro-intestinală ...tală	50% se leagă de proteine minimă în LCR şi encefal	nu	70% în 12 ore	inhibă folic acid-reductaza şi deci transformarea acidului folic în folinic	— digestive (ulceraţii, greaţă, vărsături, diaree) — deprimă hematopoeza — erupţii cutanate
...tro-intestinală ...mpletă	moderată în LCR şi encefal	50—90% în nucleotidele respective şi acid tiouric	60% în primele 24 de ore	inhibă neosinteza purinică şi ac. nucleici	— greaţă, vărsături — deprimă hematopoeza
...tro-intestinală ...npletă şi rapidă	moderată în LCR	în purină şi imidazol sulfurat	50—80% în primele 12 ore	idem	— hipo-aplazie medulară — infecţii secundare
...ro-intestinală ...npletă	minimă în LCR şi encefal	extinsă în nucleotidele respective şi produse inactive; încorporare în ARN	60—80% în primele 24 de ore	inhibă timidil-sintetaza	— greţuri, vărsături, stomatite, enterite — deprimă hematopoeza — alopecie, dermatite
...ro-intestinală ...ompletă	ridicată în LCR şi encefal	extensivă în nucleotidele respective şi în uracilarabinozid	sub 10%	inhibă sinteza dezoxicitidilatului şi ADN	— greţuri, vărsături, ulceraţii bucale şi esofagiene — leucopenie severă — keratite, conjunctivite — alopecie, febră
...ro-intestinală ...iabilă		intensă	idem	alchilant	— reacţii la locul injectării — greaţă, vărsături — deprimă hematopoeza
—	—	idem	idem	idem	idem
—	—	idem	idem	idem	idem
...ro-intestinală ...pletă	rapidă în LCR şi encefal	intensă în prima oră	rapidă	idem	— greaţă, vărsături — tulburări hepatice şi renale — leucopenie — alopecie
...o-intestinală ...pletă	idem	idem	idem	idem	— tulburări digestive minime — deprimă hematopoeza
...o-intestinală ...pletă	rapidă			alchilant	— leuco-trombocitopenie — tulburări digestive — leziuni renale (în doze mari)
...ro-intestinală ...dă, incompletă	rapidă în LCR şi encefal	intensă în prima oră	10—15% complet metabolizată	idem	— deprimă hematopoeza — tulburări renale — pigmentări cutanate
...ro-intestinală ...lă	moderată în LCR şi encefal	20—50%	30—60%	idem	— deprimă hematopoeza — greaţă, vărsături, diaree — urticarie, dermatite
...o-intestinală ...ă	minimă în LCR şi encefal	—	parţială	opreşte mitoza în metafază (substanţă antifus)	— parestezii, astenie, granulopenii — constipaţie — alopecie
	idem	—	idem	idem	idem
	—	minimă	intensă	inhibă sinteza ARN dependentă de ADN	— deprimă hematopoeza — ulceraţii digestive, greaţă, vărsături — alopecie

3. Agenții citostatici { radiații ionizante / droguri imunosupresive
4. Corticoizii
5. Serul antilimfocitar și globulina antilimfocitară
6. Ribonucleazele
7. Coloranții coloidali (albastru de tripan sau produse înrudite)
8. Agenți insuficient cunoscuți: proteine heterologe în doze masive, bacterii, virusuri mitogene de origine vegetală
9. Hipnotismul

Interesul acestei clasificări rezultă din caracterul ei sintetic și mai ales „tentant". Este interesant că ribonucleazelor li se rezervă un loc special, deși nu li se cunoaște încă valoarea clinică. De asemenea, merită să rețină atenția importanța acordată hipnotismului ca mijloc imunosupresiv, mai ales în reacțiile de hipersensibilitate întîrziată și respingerea grefei.

Alți autori (82) clasifică imunosupresoarele după importanța lor practică:

1. Antineoplazicele (alchilanții, antimetaboliții, radioizotopii, antibioticele etc.)
2. Corticoizii
3. Serul și globulina antilimfocitară
4. Antiinflamatoarele nespecifice
5. Diverse

După J. F. Soothill și T. M. Barrett, posibilitățile tratamentului în bolile imunopatologice pot fi sistematizate astfel (108):

I. *Tratamentul specific al antigenului*
   — suprimarea antigenului
   — administrarea antigenului
   — administrarea anticorpului
II. *Medicamente imunosupresive și antiinflamatoare*
   — corticoizi (spre exemplu, prednisolonul)
   — agenți alchilanți (spre exemplu, ciclofosfamida, clorambucilul)
   — antimetaboliți (spre exemplu, azatioprina)
   — globulina antilimfocitară (GAL)
III. *Reducerea țesutului limfatic prin acțiune chirurgicală sau radioterapie*
IV. *Suprimarea efectelor reacției*
   — antihistaminice (spre exemplu, piritonul)
   — agenți antiinflamatori (spre exemplu, indometacina)
   — anticoagulante
   — anticomplementari (spre exemplu, acidul epsilonaminocaproic)

Fără a nega valoarea celor trei clasificări prezentate, considerăm că actualmente nu există un criteriu unic pentru încadrarea și ierarhizarea

Scanned with OKEN Scanner

tuturor imunosupresoarelor sau adecvat practicii medicale. Acești agenți imunosupresivi trebuie însă cunoscuți, astfel că îi vom expune în următoarea ordine:

I. Drogurile imunosupresive
II. Corticoterapia
III. Radioterapia
IV. Splenectomia (ca mijloc de imunosupresie)
V. Serul antilimfocitar și globulinele antilimfocitare
VI. Drenarea limfatică a canalului toracic
VII. Timectomia
VIII. Serurile imune specifice

Scanned with OKEN Scanner

1

DROGURILE IMUNOSUPRESIVE

a) DEFINIȚIE. GENERALITĂȚI

Drogurile imunosupresive sau imunodepresive sînt substanțe medicamentoase care atenuează sau suprimă răspunsul imunitar (reduc reacția organismului față de o substanță străină) (98).

Dispunem actualmente de numeroase preparate biologice sau sintetice care pot inhiba formarea anticorpilor circulanți și preveni reacțiile imunitare tardive.

S-a constatat experimental că reacțiile imunitare au ca punct de plecare o proliferare celulară, a cărei cinetică e tot mai bine cunoscută; pentru a deprima aceste reacții este deci logic să se folosească produse care se opun proliferării celulare: *substanțele antimitotice (antineoplazicele).*

În general, introducerea drogurilor imunosupresive în terapie a urmat fidel evoluția antineoplazicelor: pe măsură ce își dovedeau ineficacitatea antitumorală erau încercate în scop imunosupresiv. Astfel, din 1946 au intrat treptat în practică numeroase substanțe imunosupresive: uretanul și azot-iperita (1946), corticoizii, R 48 și antifolicele (1948), TEM (1950), 6-mercaptopurina (1952), TIO-TEPA, busulfanul și actinomicina *D* (1954), DON (1956), ciclofosfamida, 5-fluorouracilul și mitomicina (1959), streptonigrina, vinblastina, unii progestinici și *o'p'*-DDD (1960), vincristina (1962), fenilalanilmustarul, hidroxiureea și chinacrina (1964), citozin-arabinozida, sanamicina și procarbazina (1966).

În 1958, R. Schwartz a descoperit primul imunodepresor — 6-mercaptopurina — care suprimă secreția de anticorpi față de serumalbumina bovină (105). De atunci au fost descoperite peste cincizeci de produse chimice sau biologice imunodepresive, dar 6-mercaptopurina și derivatul său imidazolic — azatioprina (imuranul) — sînt apreciate ca cele mai active, cel puțin pe plan clinic. Experimental s-au acumulat numeroase date, dar extrapolarea clinică este dificilă.

Scanned with OKEN Scanner

b) FACTORII CARE INFLUENȚEAZĂ EFECTUL IMUNOSUPRESIV

Experimentările pe animale au arătat că rezultatele obținute cu medicația imunosupresivă depind de următorii factori:

1. *Animalul* (specia, individualitatea sa genetică, gradul de maturare imunologică). Un exemplu tipic îl constituie faptul că iepurele este practic insensibil la ametopterină, deoarece ficatul său conține cantități foarte mari de aldehidoxidază, enzimă capabilă să degradeze rapid antimetabolitul amintit.

Alte exemple privind activitatea drogurilor imunosupresive în raport cu specia: mecloretamina, inactivă la șoarece și șobolan, în schimb activă la om; *1,3-bis*-(2-cloretil)-1-nitrozo-ureea e activă la șoarece și om, inactivă la șobolan. Activitatea imunosupresivă întîlnită la om e de obicei mai intensă decît la animalele de laborator.

2. *Antigenul* (tipul, eventuala asociere de antigene, doza, intervalele între administrări, durata persistenței).

3. *Substanța imunosupresivă* (tipul substanței, doza, momentul administrării în raport cu stimulul antigenic, durata tratamentului).

Activitatea imunosupresivă variază de la o substanță la alta, chiar dacă aparțin aceleiași clase. Astfel, pe cînd ciclofosfamida e remarcabil de activă, mecloretamina este practic inactivă.

Se știe că toate imunosupresoarele sînt active asupra răspunsului primar. Unele (antipurinicele și ribonucleazele) acționează într-o oarecare măsură și asupra răspunsului secundar, dar această acțiune este inconstantă și limitată, necesitînd doze mari și aplicări prelungite.

4. *Momentul instituirii tratamentului imunosupresiv* are o foarte mare importanță în raport cu acțiunea antigenului. Astfel, radiațiile ionizante, corticoizii și ribonucleazele își exercită efectul imunosupresiv doar dacă intervin cu o zi sau două înainte de stimulul antigenic. În schimb, eficacitatea antimetaboliților, a azot-iperitei și a derivaților ei, a antibioticelor antimitotice, e maximă în caz de administrare cu o zi sau două după antigen, adică în faza de inducție și în cea de debut al fazei de multiplicare.

Busulfanul și mefalanul sînt inactive date concomitent cu stimulul antigenic, dar eficace în caz de administrare cu o zi sau două înainte și după acțiunea antigenului.

Valoarea terapeutică diferită a imunosupresoarelor în raport cu stimulul antigenic a dus la studiul anticorpilor formați ca răspuns la acțiunea acestuia. Există însă unele dificultăți privind interpretarea corectă a rezultatelor.

Astfel, nivelul seric al anticorpilor nu reflectă fidel modificările populației celulare producătoare de anticorpi: chiar dacă celulele formatoare de anticorpi au fost distruse, nivelul seric al anticorpilor poate rămîne ridicat, durata vieții lor fiind de cîteva zile. În plus, sensibilitatea tehnicilor actuale nu este ideală pentru a depista precoce secreția anticorpilor din faza inițială a proliferării celulare. În lumina datelor de mai sus s-a

Scanned with OKEN Scanner

arătat că radiațiile ionizante acționează asupra populației celulare în toate fazele răspunsului imunitar, pe cînd eficiența celorlalte substanțe imunosupresive e maximă în primele 48 de ore după stimulul antigenic.

Iată, de exemplu, o experiență din care reiese că — spre a obține imunosupresia dorită — administrarea alchilanților are momentul optim în a doua sau a treia zi după aplicarea antigenului.

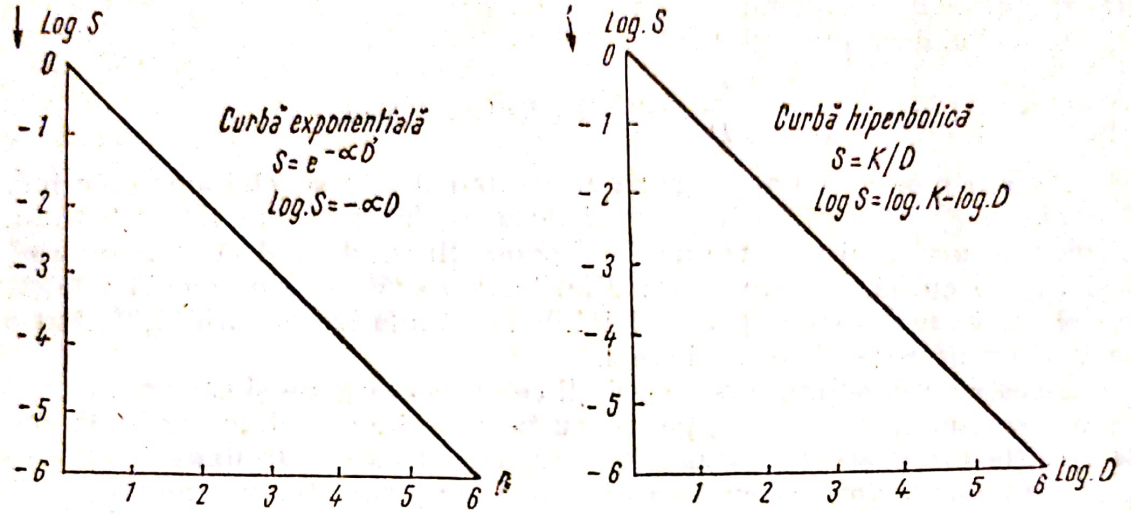


Fig. 5. Curba doză-efect (după Berenbaum, 1969).

S=proporția celulelor supraviețuitoare, adică a celulelor producătoare de anticorpi în plăci Jerne în raport cu martorul netratat cu imunosupresor; D= doza de imunosupresor.

Injectînd intravenos unor șobolani Lewis 64×10^6 celule nucleate de splină de la șobolani cu reacție la grefă, fac toți o dermatită, iar după 30 de zile, majoritatea mor; dacă în a doua, a treia sau a patra zi după grefă se injectează endoperitoneal metotrexat 0,5 mg/kilocorp, nici un animal nu prezintă dermatită și în a 30-a zi mortalitatea este doar de 40%; administrînd aceeași doză în a șaptea, a noua și a unsprezecea zi, toate animalele fac dermatită și mor pînă în a 30-a zi. Injectînd cu 4 ore înainte de grefă o doză joasă letală de ciclofosfamidă (100 mg/kilocorp), toate animalele prezintă dermatită, iar mortalitatea atinge 82% în a 30-a zi; administrînd însă ciclofosfamida în doză de 10 mg/kilocorp în a doua, a treia și a patra zi după grefă, dermatita apare numai la 55,5%, iar în a 30-a zi mortalitatea este doar de 1%; administrînd aceeași doză în a șaptea, a noua și a unsprezecea zi, dermatita apare la 87% și în a 30-a zi mortalitatea se ridică la 50% (102).

În anumite condiții, imunosupresoarele pot da un răspuns invers, adică de stimulare în loc de inhibare a reacțiilor imunitare, dar faptul acesta n-a putut fi constatat decît pe animalele de laborator și nu la om.

5. *Relația dintre doza folosită și efectul obținut* constituie un aspect care merită să fie analizat. În acest scop, Berenbaum (13) a folosit plăcile lui Jerne, în care cercetează numărul celulelor producătoare de anticorpi, calculînd proporția celulelor supraviețuitoare în raport cu martorii. După cum a demonstrat el, curba doză-efect este fie de tip exponențial, fie de tip hiperbolic (fig. 5).

Scanned with OKEN Scanner

În curba doză-efect de tip exponențial,

$$S = e^{-\alpha D}, \text{ adică } \log S = -\alpha D.$$

Asemenea curbe apar după radiații și agenți alchilanți (în special ciclofosfamida și mefalanul). Fixînd doza totală și durata tratamentului, efectul asupra celulelor rămîne același, indiferent de modul de administrare: puține doze mari sau multe doze mici.

În curba doză-efect de tip hiperbolic,

$$S = \frac{K}{D}, \text{ adică } \log S = \log K - \log D.$$

Acest tip de curbă apare după antimetaboliți (în special ametopterină, 6-tioguanină, 5-fluorouracil). Fixînd doza totală și durata tratamentului, efectul asupra unui amestec de două populații celulare *A* și *B* avînd același tip de curbă, dar de pantă diferită, variază după posologia zilnică, astfel încît modificînd-o poate fi inhibată populația celulară *A*, făcînd-o pe *B* să prolifereze, fie exact invers.

Aceste date, obținute pe populații celulare omogene și care nu depind de mecanisme homeostatice, pot să nu fie valabile pe celule imunocompetente. Ele atrag atenția asupra faptului că nu există argumente care să pledeze pentru administrarea fracționată a drogurilor imunosupresive.

Dacă pentru obținerea imunosupresiei are valoare relația doză-efect, nu este mai puțin importantă durata tratamentului efectuat, diferită pentru fiecare mijloc imunosupresiv. Trebuie reținut faptul că pentru drogurile imunosupresive nu există o corelație între activitatea imunosupresivă și cea neoplazică, așa cum o demonstrează numeroase cercetări experimentale și cazuistica clinică.

Dacă experimental s-a dovedit că activitatea imunosupresivă e potențată (existînd, deci, un sinergism funcțional) administrînd concomitent două sau mai multe droguri imunosupresive, faptul apare mai puțin net în practica clinică. În schimb, s-a demonstrat că asocierea imunosupresoarelor antineoplazice cu corticoizii sau cu radiațiile ionizante mărește efectul imunosupresiv.

6. *Tipul reacției imunitare* (producerea de anticorpi serici, reacția de hipersensibilitate întîrziată, expulzarea grefei incompatibile).

De fapt, imunosupresoarele sînt active tocmai în ce privește aceste trei tipuri de reacții imune. Deși diferă între ele, reacțiile în cauză prezintă unele aspecte comune, menționate în capitolele anterioare. Iată despre ce e vorba, pe scurt:

a) Antigenul este adus la anumite limfocite apte să-l recunoască, fie neschimbat, fie după ce a fost transformat de macrofage.

b) Limfocitul mic se transformă în celulă blastică mare, fără să se multiplice (faza de inducție, care durează la șoareci 24—36 de ore).

Pare demonstrat că în această perioadă sau puțin după aceea au loc interacțiuni între celulele timodependente și cele medulodependente, condiție esențială reacțiilor imune, mai puțin sintezei de anticorpi.

Scanned with OKEN Scanner

c) Aceste celule se multiplică, dînd naștere fie celulelor producătoare de anticorpi, care rămîn în centru (plasmocite, limfoblaști sau alte celule mononucleate), fie celulelor aparent neproducătoare de anticorpi (limfocite mici sau alte celule mononucleate) care migrează, fiind responsabile de reacțiile de hipersensibilitate întîrziată și de respingere a grefelor.

d) Rezultatul final constă într-o reacție foarte complexă, declanșată de contactul dintre antigen și limfocitul mic sensibilizat, incluzînd numeroși componenți și, evident, o reacție inflamatoare.

7. *Metodele folosite pentru măsurarea reacției imunitare și, implicit, activitatea imunosupresoarelor.* Există multiple metode de studiu (*in vivo* și *in vitro*), fiecare avînd însă unele neajunsuri.

A. Metode de studiu *in vivo*. a) *Metodele globale* studiază secreția de anticorpi, reacția inflamatoare de hipersensibilitate întîrziată și respingerea unei grefe. Astfel:

— secreția de anticorpi este studiată în serul șoarecilor sensibilizați cu globule roșii de berbec, proteine heterologe sau salmonele;

— hipersensibilitatea întîrziată este studiată pe cobaiul sensibilizat la tuberculină sau la o substanță chimică de tipul dinitroclorbenzenului.

Acest studiu necesită martori care au primit o substanță iritantă (de tipul terebentinei) pentru a cerceta efectele antiinflamatoare nespecifice ale unor droguri. Pentru studiul acestei reacții pot fi folosite modelele experimentale de artrită reumatoidă prin injectare de adjuvanți sau coriomeningita limfocitară;

— respingerea grefelor este studiată pe alogrefele de piele la șoareci.

b) *Studiul cineticii celulare* se efectuează cu ajutorul plăcilor lui Jerne sau al rozetelor imune. Se examinează comparativ celulele splenice a două loturi de șoareci imunizați: un lot tratat cu imunosupresoare, altul netratat.

c) *Studiul la nivel molecular* presupune cercetarea încorporării izotopilor radioactivi în celulele splenice, ceea ce permite explorarea sintezei acidului dezoxiribonucleic, acidului ribonucleic, proteinelor.

B. Metode de studiu *in vitro*. a) *Cultura de limfocite* în prezența unui antigen la care aceste limfocite sînt sensibile și a imunosupresorului de studiat reprezintă o metodă interesantă, dar cu unele limite: este lentă (lectura necesită circa o săptămînă), delicată și nu poate fi aplicată limfocitelor nesensibilizate.

b) *Studiul plăcilor lui Jerne* în prezența imunosupresorului respectiv se aplică numai celulelor sensibilizate; or, este cunoscut că imunosupresoarele sînt puțin active asupra acestora.

c) *Studiul inhibiției rozetelor*, propus de J. F. Bach și colab., reprezintă un test comod, cu multiple avantaje: este foarte sensibil, se aplică celulelor nesensibilizate, poate fi realizat la om plecînd de la limfocitele sîngelui periferic (8; 9; 10).

Acest test are la bază studiul fenomenului de „rozetă spontană". Dacă după prealabila imunizare a unui șoarece față de eritrocitele de oaie se amestecă limfocitele șoarecelui cu eritrocitele de oaie, se constată

Scanned with OKEN Scanner

că 10—15% din limfocite formează rozete zise de imunocito-aderență, numite *rozete imune*. Dar, dacă se amestecă limfocitele unui șoarece nesensibilizat cu eritrocitele de oaie, atunci un număr mic de limfocite — 0,3—1‰ — vor forma totuși rozete, numite în acest caz *rozete spontane*. Este meritul lui J. F. Bach (Paris) de a fi arătat că aceste rozete spontane sînt mult mai sensibile la acțiunea imuranului și 6-MP decît rozetele imune (8; 9; 10). Astfel, 6-mercaptopurina inhibă rozetele spontane la o concentrație de 0,007 8 mg/ml, rozetele imune la concentrația de 0,062 5 mg/ml, iar citotoxicitatea apare la concentrația de 1 mg/ml.

Raportul concentrației citotoxice și al celei care inhibă rozetele spontane permite definirea unui „index terapeutic" pentru fiecare drog. Acest index este de 400 pentru azatioprină, 60 pentru ametopterină, 16 pentru 5-fluorouracil, 13 pentru 6-tioguanină și 3 pentru actinomicine.

Cu acest test se poate determina nu numai concentrația serică a drogului respectiv, ci și a metaboliților săi. De asemenea, se poate aprecia efectul imunosupresiv la om, prelevînd serul unui subiect tratat și studiindu-i efectul inhibitor asupra rozetelor spontane ale șoarecelui.

După cum este firesc, datele experimentale pe animale nu pot fi extrapolate în totalitate la om.

Progresele în studiul și izolarea produșilor chimici activi imunosupresivi sau antitumorali sînt determinate de progresele biologiei celulare. În general, utilizarea lor terapeutică urmărește trei obiective importante:

1. efect maxim imunosupresiv sau antitumoral;
2. protejarea cît mai eficace a țesuturilor sănătoase;
3. cruțarea mijloacelor de apărare imunitară.

c) MECANISMUL DE ACȚIUNE AL IMUNOSUPRESOARELOR

Mecanismul acesta este incomplet cunoscut, deși s-au efectuat numeroase cercetări. Există însă unele achiziții care merită să fie reținute, după cum sînt altele care pretează la discuții, interpretări etc. Dificultățile rezidă însă în faptul că cele mai numeroase cercetări au fost efectuate pe celule tumorale (leucemii experimentale) și mai puțin pe celulele imunocompetente ale omului normal.

Acțiunea imunosupresivă poate fi datorită drogului însuși (de exemplu, ciclofosfamida) sau metaboliților săi, care pot fi mai activi și mai puțin toxici decît drogul (de exemplu, 6-mercaptopurina).

Deși imunosupresoarele intervin în anumite etape ale răspunsului imunitar (specific pentru fiecare substanță), se poate aprecia totuși că, în final, majoritatea lor influențează limfocitele. Este de remarcat uneori acțiunea preferențială asupra unei anumite populații celulare.

Mecanismele prin care intervin asupra celulelor sînt diferite. Astfel, unele droguri imunosupresive inhibă anumite sisteme enzimatice, reversibil (6-mercaptopurina) sau ireversibil (azaserina).

Dar majoritatea drogurilor imunosupresive acționează direct asupra acidului dezoxiribonucleic și a acidului ribonucleic, în moduri diferite:

Scanned with OKEN Scanner

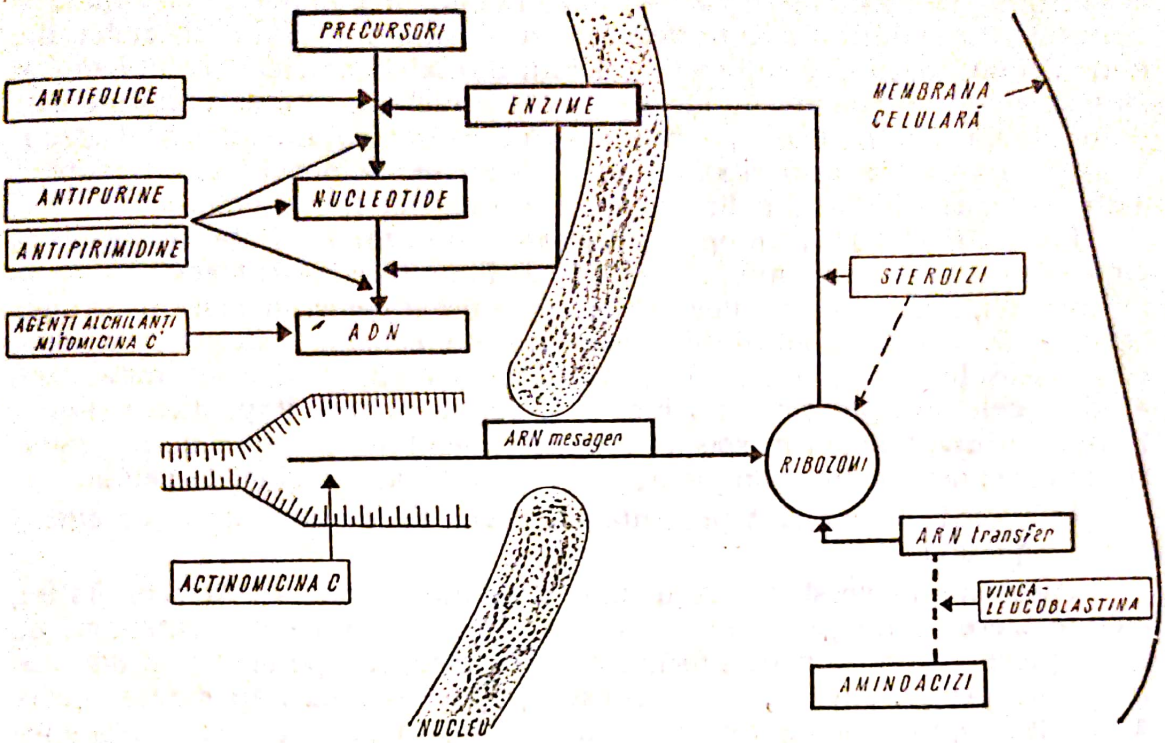


Fig. 6. Locurile de acțiune a unor agenți chimioterapici.

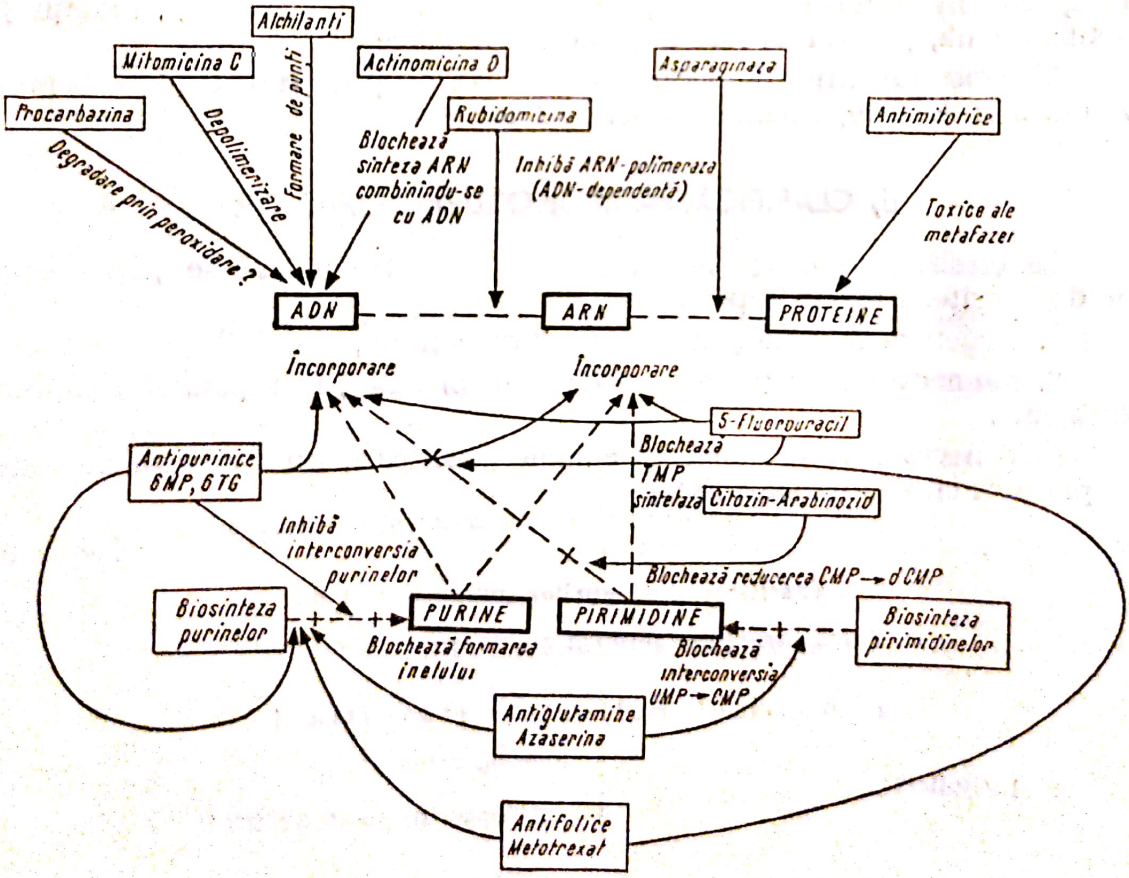


Fig. 7. Modul de acțiune a drogurilor imunosupresive (după J. Vicente, modificat).

Scanned with OKEN Scanner

substituție de baze anormale (antipirimidina), depolimerizare, rupere a lanțului sau stabilire a unor legături neobișnuite (alchilanții, radiațiile, mitomicina), formînd complexe cu acidul dezoxiribonucleic și împiedicînd sinteza acidului ribonucleic mesager (actinomicina), inhibînd fixarea acidului ribonucleic mesager pe ribozomi (cloramfenicolul), înlocuind „fraudulos" un complex acid ribonucleic de transfer aminoacid și întrerupînd astfel formarea lanțului polipeptidic al proteinelor (puromicina).

În concluzie, imunosupresoarele intervin în viața celulei, blocînd sau distrugînd anumite structuri sau funcții de bază: structura acizilor nucleici, biosinteza acizilor nucleici și a proteinelor, inclusiv proteinele enzimatice. Antimetaboliții blochează sinteza acizilor nucleici, în special a acidului dezoxiribonucleic; antimitoticele sînt toxice ale metafazei; antibioticele de tipul actinomicinei *D* și rubidomicinei împiedică metabolismul normal, blocînd în special biosinteza acidului ribonucleic nucleolar și mesager; asparaginaza împiedică încorporarea asparaginei în celule.

În figurile 6 și 7 sînt prezentate locurile de acțiune ale unor agenți imunosupresivi.

Consecințele acestor reacții sînt variabile de la caz la caz. Astfel, administrarea unui „antidot" — acidul folinic — după un tratament cu ametopterină în doze mari suprimă toate fenomenele pe care le produsese drogul respectiv. Alteori, aceste substanțe pot provoca importante dezordini celulare, ireversibile (inhibarea mitozelor, alterări ale nucleoproteinelor și ale organitelor, moartea celulei). Asemenea fenomene se întîlnesc în special în organele limfoide, după tratamente cu alchilanți, radiații și actinomicină, și sînt mai rare după antimetabolice.

Mecanismul intim de acțiune al fiecărui grup de substanțe va fi prezentat mai departe, o dată cu descrierea lor.

d) CLASIFICAREA IMUNOSUPRESOARELOR

La clasificarea drogurilor imunosupresive trebuie să se țină seama de două criterii foarte importante:

1. structura chimică și mecanismul de acțiune;
2. momentul de acțiune în răspunsul imunitar, în raport cu stimulul antigenic.

Este necesar să se cunoască ambele clasificări, fiind extrem de utile în practica clinică (tabelul IX).

TABELUL IX

Clasificarea drogurilor imunosupresive

A. După structura chimică și mecanismul de acțiune

I. Antimetabolicele (citostaticele)

a) *Antifolicele*	aminopterina
	ametopterina (metotrexatul)

Scanned with OKEN Scanner

b) *Antipurinicele*
- 6-mercaptopurina (6-MP, purinetolul)
- 6-metilmercaptopurina (azatioprina, imuranul)

c) *Antipirimidinicele*
- 5-fluorouracilul
- arabinozilcitozina (arabinozina, citozina)

d) *Antagoniştii acizilor aminaţi*
- azaserina
- diazo-oxo-norleucina
- *L*-asparaginaza

II. Agenţii alchilanţi (citotoxicele)

a) *Derivaţii beta-cloretilaminei*
azot-iperita (embihinul, mustargenul)
nitrominul
degranolul
sinalostul
endoxanul (ciclofosfamida)
clorambucilul (cloraminofenul, leukeranul)
sarcolizina (mefalanul, alkeranul)

b) *Derivaţii etileniminei*
trietilenmelamina (TEM)
trietilenfosforamida (TEPA)
trietilentiofosforamida (TIO-TEPA)
E_{39} (inprocona)

c) *Derivaţii acidului sulfonic*
mileranul (busulfanul, citosulfanul)

d) *Derivaţii N-metilhidrazinei*
natulanul (procarbazina)

III. Antimitoticele (alcaloizii, agenţii mitoclazici)

colchicina
colcemidul (demecolcina)
podofilina
alcaloizii plantei *Vinca rosea linnea*
- vinblastina
- vincaleucocristina

IV. Antibioticele antimitotice

actinomicinele *C* şi *D*
mitomicina
streptovitacina *A*
streptonigrina

Scanned with OKEN Scanner

puromicina
rubidomicina
metilglioxalul
tetraciclinele
cloramfenicolul
streptomicina
kanamicina
neomicina

V. Alţi agenţi imunosupresivi

ribonucleazele
virusuri, bacterii?
progestativele de sinteză
acidul acetilsalicilic, salicilaţii, fenilbutazona
acidul epsilonaminocaproic
clorochina
indometacina
proteaze, lipaze
heparina

B. *După momentul acţiunii*

I. Droguri care acţionează numai dacă sînt administrate înaintea stimulării antigenice

azot-*L*-fenilalanina

II. Droguri care intervin după stimulul antigenic

6-mercaptopurina
azatioprina
ametopterina
5-fluorouracilul
vinblastina
actinomicinele

III. Droguri care acţionează dacă sînt administrate, fie înainte, fie după stimularea antigenică

ciclofosfamida

I. ANTIMETABOLICELE (CITOSTATICELE)

Una dintre proprietăţile de bază ale celulei este aceea de a sintetiza acizii nucleici.

Cei doi acizi nucleici — acidul dezoxiribonucleic (ADN) şi acidul ribonucleic (ARN) — au o structură chimică asemănătoare, diferind doar printr-o bază pirimidinică şi glucid, aşa cum o ilustrează tabelul X.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL X

Structura chimică a ADN-ului și a ARN-ului

		ADN	ARN
Bază purinică	Adenină	+	+
	Guanină	+	+
Bază pirimidinică	Citozină	+	+
	Timină	+	—
	Uracil	—	+
Glucid	Dezoxiriboză	+	—
	Riboză	—	+
Acid fosforic		+	+

Sinteza lor chimică se realizează în cîteva etape, catalizate de enzime diferite (tabelul XI).

TABELUL XI

Etapele sintezei acizilor nucleici

FAZA I Sinteza bazelor purinice sau pirimidinice	Precursori (CO_2, amoniu, radical formil, glicină) Bază { purinică / pirimidinică +glucid (pentoză)
FAZA a II-a Sinteza nucleozidului, a nucleotidului și polimerizarea nucleotidului	Nucleozid +PO_4H_3 Nucleotid Polimerizare Acid nucleic (ADN, ARN)

Substanțele imunosupresive antimetabolice intervin în diferite etape ale sintezei acizilor nucleici, influențînd fie sinteza bazelor purinice sau pirimidinice, fie formarea nucleozidelor sau nucleotidelor. Ele au în general o structură apropiată de produsele fiziologice, cu care intră în competiție în diferite reacții enzimatice ale acestora, conferind un fals material de sinteză a acizilor nucleici, cu grave perturbări metabolice. În

Scanned with OKEN Scanner

competiție cu metaboliții normali, antimetaboliții inhibă diferite sisteme enzimatice. Inhibiția este de durată variabilă, în raport cu cantitatea de metaboliți existentă și cu afinitatea antimetabolitului față de enzimă.

Astfel, dacă afinitatea antimetabolitului pentru enzimă este egală cu a metabolitului, inhibiția va fi de scurtă durată, excesul de metabolit putînd învinge inhibiția. Cînd afinitatea antimetabolitului față de enzimă este mai mare decît a metabolitului natural (ca în cazul ametopterinei), inhibiția realizată este ireversibilă.

Întrucît acidul folic joacă rolul esențial în prima fază a sintezei acizilor nucleici, antagoniștii săi (aminopterina, ametopterina) reduc foarte mult sinteza bazelor purinice sau pirimidinice. Acțiunea lor inhibitoare este însă nespecifică, influențînd în egală măsură sinteza celor doi acizi nucleici (acidul dezoxiribonucleic, acidul ribonucleic).

În schimb, folosirea analogilor purinici sau pirimidinici va influența selectiv sinteza unuia din ei, ceea ce se explică prin structura lor parțial diferită. Astfel, 5-fluorouracilul inhibă specific sinteza acidului ribonucleic fără să afecteze sinteza acidului dezoxiribonucleic (fluorouracilul este antagonist al uracilului, care intră numai în componența acidului dezoxiribonucleic).

În cea de-a doua fază a sintezei nucleozidului și nucleotidului, rolul esențial îl joacă analogii purinici și pirimidinici. Deoarece acizii nucleici sînt mai bogați în baze purinice, este justificată folosirea pe scară mult mai largă a analogilor purinici decît a celor pirimidinici.

Folosirea antimetaboliților în tratamentul crizelor de transplant în alogrefe a dus la emiterea mai multor ipoteze privind *mecanismul lor de acțiune.*

1. *Acțiunea asupra limfocitelor care recunosc antigenul.* Declanșarea reacției imunitare presupune contactul intim al antigenului cu receptorii limfocitelor timp de 3—4 zile, altfel reacția nu se produce. Or, mecanismul de acțiune al antimetaboliților ar consta tocmai în suprimarea sau blocarea receptorilor aflați pe suprafața limfocitelor, ceea ce face imposibil contactul dintre antigen și limfocit. În sprijinul ipotezei menționate se înscrie inhibarea formării rozetelor spontane de către antimetaboliți.

2. *Acțiunea asupra stimulării limfocitelor care au recunoscut antigenul* e o ipoteză cu mai puține argumente decît precedenta.

3. *Acțiunea asupra proliferării celulelor sensibilizate.* Diviziunea celulelor timodependente o precedă pe aceea a celulelor medulodependente, durînd în general pînă în ziua a cincea, cînd frecvența mitozelor este maximă.

Deși se cunoaște acțiunea inhibitoare a antimetaboliților asupra sintezei acidului dezoxiribonucleic și a acidului ribonucleic, nu se poate explica totuși ineficacitatea lor în cazul administrării după a treia zi de la stimularea antigenică.

4. *Acțiunea asupra mecanismelor efectoare,* concretizată în acțiunea antimetaboliților asupra secreției mediatorilor de către limfocite sau asupra puterii citotoxice a limfocitelor sensibilizate, este respinsă datorită:

— ineficacității acestora în cazul administrării după a doua zi de la stimularea antigenică;

Scanned with OKEN Scanner

— neinhibării citotoxicității limfocitelor *in vitro;*

— nesuprimării celulelor formatoare de anticorpi *in vivo* și *in vitro,* în concentrații similare celor din organism.

În funcție de substanțele cu care intră în competiție, antimetaboliții cuprind: *a*) antifolicele, *b*) antipurinicele, c) antipirimidinicele și *d*) antagoniștii acizilor aminați.

a) ANTIFOLICELE

Acidul folic (acidul pteroilglutamic) participă la numeroase reacții chimice, fiind necesar sintezei bazelor purinice și pirimidinice din precursori simpli.

În sinteza purinei participă în calitate de catalizator al încorporării C_8 în nucleul purinic, iar în metabolismul pirimidinei intervine în faza de metilare a acidului uridilic și de transformare a sa în acid timidilic.

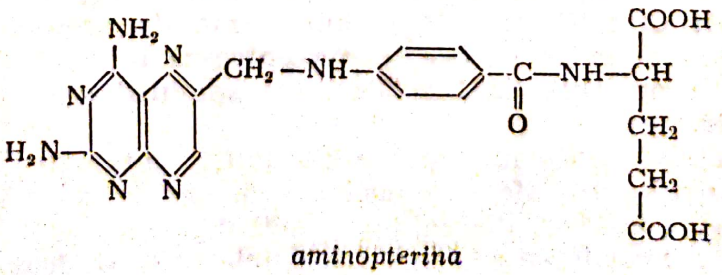
În diferitele procese metabolice intervine indirect, prin forma sa activă de acid folinic (*citrovorum factor,* leucovorina) care reprezintă acidul 5-formil-5,6,7,8-tetrahidropteroilglutamic sau acidul tetrahidrofolic. El intervine în sinteza timidintrifosfatului, element capital în sinteza acidului dezoxiribonucleic și a acidului ribonucleic.

Antifolicele sînt substanțe structural asemănătoare cu acidul folic, dar au în poziția *4* un radical amino; ele funcționează ca antimetaboliți, blocînd transformarea acidului folic în acid folinic, prin inhibarea enzimei care catalizează această reacție: dehidrofosfatreductaza. Inhibarea are loc prin combinarea stoichiometrică a antifolicelor cu enzima, grație unei puternice afinități a acestora.

Datorită acestei reacții, țesuturile nu mai pot utiliza acidul folinic, astfel că antifolicele interferează cu transferul unităților monocarbonice, sistînd întrebuințarea formiatului de către țesuturi, pentru sinteza ciclului purinic (respectiv a adeninei și guaninei), sinteza timinei (metilarea acidului uridinic în acid timidilic), sinteza serinei și a metioninei. Din cele de mai sus rezultă că antifolicele inhibă sinteza acizilor nucleici în faza inițială de sinteză a bazelor. Ele au o acțiune mixtă, comportîndu-se atît ca antipurine, cît și ca antipirimidine.

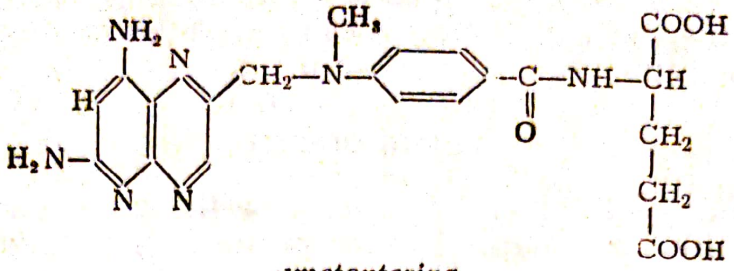
Dintre antifolice, cele mai cunoscute sînt:

Aminopterina (acidul 4-aminopteroilglutamic). Se deosebește de acidul folic prin aceea că în poziția *4* a inelului pteridinic se află o grupare amino în locul grupării OH.



aminopterina

Ametopterina (MTX, metotrexatul, acidul 4-amino-N^{10}-metilpteroilglutamic). Diferă de aminopterină prin aceea că la azotul din poziţia *10* există o grupare metilică în locul hidrogenului.



ametopterina

În afara acestor două substanţe au fost folosite şi altele, analoge structurii acidului folic, dar cu acţiune imunosupresivă nesemnificativă: teropterina (acidul pteroiltriglutamic), adenopterina (acidul 4-amino-9N^{10}-dimetilpteroilglutamic), aminoanfolul (acidul 4-aminopteroilasparaginic), acidul 4-aminopteroilaminoadipic, diclorametopterina (acidul 3,5-diclor-4-amino-N^{10}-metilpteroilglutamic).

Metotrexatul este actualmente cel mai folosit antifolic pentru activitatea sa imunosupresivă.

Principala sa acţiune constă tocmai în faptul că inhibă transformarea acidului folic în acid folinic, blocînd utilizarea acestuia de către ţesuturi. El se opune sintezei acidului dezoxiribonucleic şi acidului ribonucleic, inhibînd încorporarea acidului formic. Faţă de dehidrofosfatreductază are o afinitate de 100 000 de ori mai puternică decît acidul folic.

Metotrexatul se prezintă sub formă de tablete a 0,002 5 g ori fiole conţinînd 0,005 sau 0,05 g. Doza *pro die* variază între 0,002 5 şi 0,005 g; tratamentul durează 3—4 săptămîni.

Pe cale orală se administrează dimineaţa întreaga doză (2—3 tablete); intravenos, zilnic sau la 4 zile, doza e de 0,000 8 g/kilocorp. Se poate da în perfuzii intraarteriale (de exemplu, în carotida externă) sau intrarahidian, deşi nu traversează uşor bariera hemato-encefalică.

Aminopterina şi metotrexatul sînt resorbite total, cu multă uşurinţă, din tractul gastro-intestinal.

Se elimină prin rinichi, deci funcţia acestora trebuie să fie nealterată. În caz contrar se realizează creşteri considerabile ale substanţelor în plasmă, fiind necesare măsuri speciale. Administrat intravenos, 40% din doză se elimină în primele 48 de ore, fără modificări structurale, reprezentînd *clearance*-ul drogului liber din plasmă. După acest interval, eliminarea scade semnificativ (1%), sub formă de produse nedefinite. Substanţa rămasă după 48 de ore se concentrează în ficat şi rinichi. Ea a fost decelată la om chiar la 116 zile după administrare, iar la şoarece după 240 de zile.

Dintre efectele toxice ale metotrexatului menţionăm cele asupra tubului digestiv (ulceraţii ale mucoasei bucale sau intestinale, stomatită, anorexie, greţuri, vărsături, diaree, hemoragii digestive) şi cele de depresiune profundă a hematopoezei, cu consecinţele sale: sindrom hemoragic,

Scanned with OKEN Scanner

anemie, infecţii secundare. Mai rar se semnalează: erupţii cutanate, alopecie, reacţii peritoneale, infiltraţie grasă şi fibroză periportală sau alterare a testelor funcţionale hepatice. Administrat în cursul sarcinii provoacă resorbţia fătului sau are efecte teratogene. Efectele toxice dispar sau se atenuează mult dacă se administrează concomitent acid folinic, în doză de 3 mg, intramuscular, fapt demonstrat elocvent de Berenbaum (13; 14).

Datorită efectelor toxice amintite mai sus, administrarea metotrexatului e contraindicată în caz de hipoplazie medulară, sarcină, insuficienţă renală severă şi insuficienţă hepatică. În orice caz, terapia cu metotrexat impune o supraveghere atentă clinică şi biologică (hematologică, renală şi hepatică).

În concluzie, deşi ametopterina e un produs activ imunodepresiv, totuşi pe plan clinic e mai rar folosită, datorită accidentelor hematologice şi hepatice.

b) ANTIPURINICELE

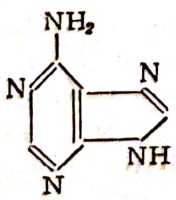
Antipurinicele sînt substanţe structural analoge bazelor purinice, motiv pentru care sînt încorporate în nucleotide şi mai rar în polinucleotide, tulburînd astfel sinteza acizilor nucleici.

Cele mai cunoscute antipurinice sînt: 6-mercaptopurina (6-MP, purinetolul), 6-metilmercaptopurina (azatioprina, imuranul, imuralul), 6-tioguanina, 6-tioguanozina, 8-azaguanina.

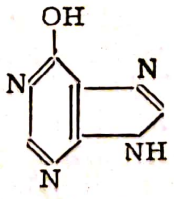
Dintre acestea, mai folosite pentru activitatea lor imunosupresivă şi eficienţa terapeutică sînt primele două. De altfel, ele constituie tratamentul de bază în majoritatea alogrefelor umane.

Iniţial, antipurinicele au fost utilizate în tratamentul leucozelor, însă în 1958 Schwartz şi colab. au arătat că 6-MP poate suprima răspunsul imunitar primar al iepurelui la injectarea serumalbuminei bovine. Folosind antipurinice, Schwartz şi Dameshek (1960) au prelungit supravieţuirea alogrefelor de piele la iepure, iar Caine, a alogrefelor renale la ciine.

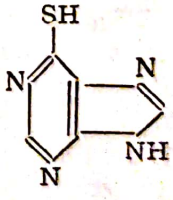
6-Mercaptopurina. În 1952, Elion şi colab. au sintetizat 6-mercaptopurina (6-MP, purinetolul), derivat al purinei, care conţine o grupare —SH în poziţia 6. Substanţa este un analog al adeninei şi hipoxantinei, aşa cum o demonstrează formulele lor chimice.



adenina



hipoxantina



6-mercaptopurina

Purinetolul se prezintă sub formă de tablete a 50 mg pentru administrare orală. Este resorbit cu multă rapiditate la nivelul tubului digestiv. Marcarea cu S^{35} permite să se studieze metabolismul substanţei.

Scanned with OKEN Scanner

Principala acţiune este cea citotoxică, fiind un antagonist al adeninei şi hipoxantinei.

Purinetolul este transformat în ribonucleotid, convertit apoi în acid tioinozinic şi, mai departe, în acid tioxantilic — şi poate în dezoxitioguanazină. S-a demonstrat că puterea imunosupresivă a acestor metaboliţi intermediari este mai mare decît a drogului însuşi.

Inhibiţia metabolică provocată de 6-MP şi derivaţii săi se exercită prin două mecanisme. Primul: acidul tioinozinic blochează conversiunea acidului inozinic în acid xantidilic sau în acid adenilsuccinic şi, respectiv, în acid guanilic şi acid adenilic. Al doilea: ribonucleotidul 6-mercaptopurinic inhibă sinteza purinelor plecînd de la precursorii lor simpli (formiat, glicină, CO_2, glutamină), graţie analogiei sale cu produsele terminale ale sintezei purinice *(feedback-inhibition)*. Rezultă că 6-MP intervine în primele verigi ale sintezei acizilor nucleici (Skipper, 1954). Ar putea să existe şi alte modalităţi de acţiune ale 6-MP, a căror importanţă nu este cunoscută. Efectul său maxim se înregistrează la nivelul măduvei osoase, epiteliului intestinal, iar în doze mari, şi la nivelul ficatului.

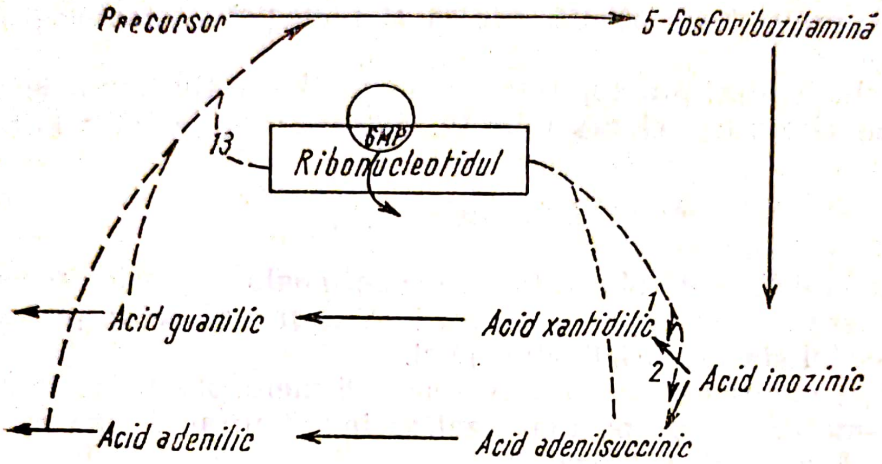


Fig. 8. Modul de acţiune al 6-MP (după Berenbaum).
⟶ Sensul reacţiilor chimice.
⇢ Acţiuni inhibitoare
1 şi 2 — inhibiţie competitivă; 3 — inhibiţie de tip feedback.

Elion şi colab. (1954) au arătat că 60% din doza de 6-mercaptopurină se elimină prin urină în primele 24—48 de ore: 30% nemodificată structural, iar 30% transformată în acid tiouric. 6-mercaptopurina rămasă în organism se concentrează în acizii nucleici, atît în fracţiunile de acid ribonucleic, cît şi în cele de acid dezoxiribonucleic, în intestin şi mai puţin în ficat, rinichi şi splină. După cum rezultă din cele de mai sus, catabolismul 6-mercaptopurinei urmează două căi principale: oxidare directă, în prezenţa xantinoxidazei ajungînd la acid tiouric, şi metilare, apărînd o serie întreagă de derivaţi. Alopurinolul, inhibitor al xantinoxidazei, încetineşte catabolismul 6-mercaptopurinei şi îi dublează activitatea imunosupresivă, fără să crească toxicitatea.

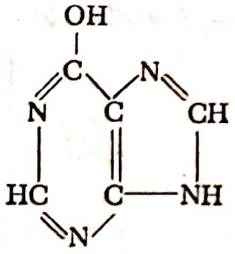
Doza *pro die* este de 2,5—5 mg/kilocorp, administrată o dată, pe cale bucală, aproximativ 3—4 săptămîni.

Scanned with OKEN Scanner

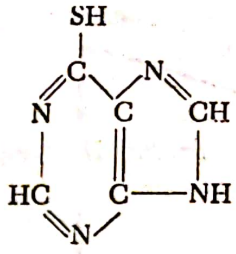
Dintre efectele secundare merită să reţină atenţia îndeosebi leucopenia, trombocitopenia, leziunile gastro-intestinale moderate şi în special ale cavităţii bucale. Multe dintre efectele toxice se aseamănă cu cele produse de antifolice. Cercetările de histopatologie au decelat prezenţa unei reacţii moderate cu celule rotunde în spaţiul port. Goldin şi colab. au arătat că efectele toxice ale 6-mercaptopurinei pot fi atenuate sau prevenite administrînd doze moderate de acid adenilic.

6-Metilmercaptopurina (azatioprina, imuranul, imuralul) a fost sintetizată în 1961 de Elion şi colab., acelaşi grup care cu 11 ani in urmă sintetizase 6-mercaptopurina (purinetolul). Azatioprina este imunosupresorul cel mai larg folosit datorită maniabilităţii sale şi efectelor secundare foarte reduse. Nu s-a precizat încă dacă este sau nu superior 6-mercaptopurinei, aşa cum susţine Elion.

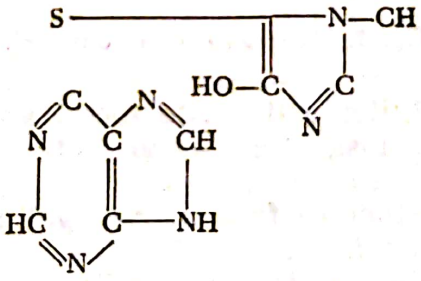
Structură chimică. Azatioprina este derivatul heterociclic imidazolic al 6-mercaptopurinei ⟨6-(metil-4-nitro-imidazol-5-metiltio)-purină⟩, analog bazei purinice, hipoxantina.



hipoxantina



6-mercaptopurina



azatioprina

Are o greutate moleculară de 286, faţă de 6-MP care are o greutate moleculară de 170.

Metabolismul azatioprinei a fost cunoscut în mai mare măsură în ultima vreme, graţie folosirii a trei metode de studiu: *metode izotopice* (care utilizează azatioprină marcată cu ^{35}S sau ^{14}C pe nucleul imidazolic), *metode chimice* (care analizează diferiţii metaboliţi sanguini şi urinari) şi *metode biologice* (care folosesc testul de inhibare a rozetelor).

Administrată pe cale orală, se absoarbe în cantitate foarte mare, 80% din doza administrată apărînd în concentraţii ridicate în ser în mai puţin de 15 minute de la ingerare.

O problemă mult controversată a fost aceea dacă activitatea azatioprinei se datoreşte ei însăşi ori transformării sale în 6-mercaptopurină

Scanned with OKEN Scanner

sau alt metabolit activ. Se cunoaşte în prezent superioritatea efectului imunosupresiv al azatioprinei faţă de 6-mercaptopurină, fără a se şti precis dacă aceasta aparţine metaboliţilor imunosupresivi activi sau permeabilităţii celulare crescute pentru azatioprină comparativ cu 6-MP.

Testul de inhibiţie a rozetelor spontane a arătat că atît în cazul 6-MP, cît şi al azatioprinei, efectul imunosupresiv se datoreşte unor metaboliţi activi care apar la aproximativ 30—60 minute după administrare. Cercetările chimice atribuie acidului tioinozic rolul activ. Prezentăm în fig. 9, schema de degradare a azatioprinei.

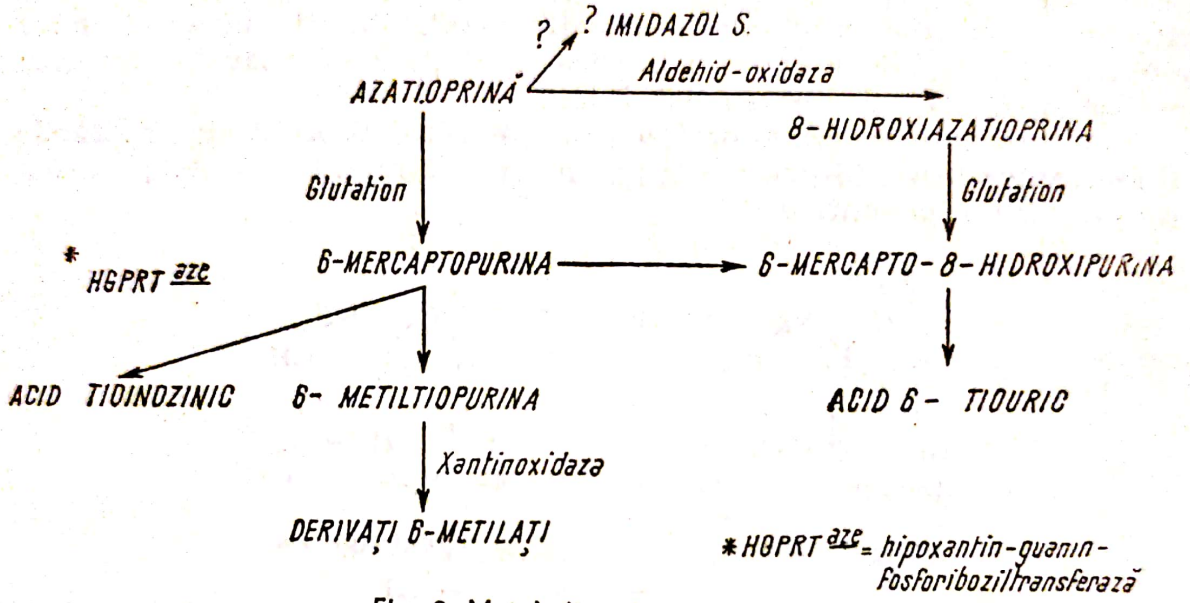


Fig. 9. Metabolismul azatioprinei.

Producerea metaboliţilor activi este foarte scăzută în caz de insuficienţă hepatică sau la gutoşi, atinşi de un deficit de hipoxantin-guanin-fosforibozil-transferază.

Degradarea azatioprinei se face în mai puţin de 4 ore, un rol important revenind xantinoxidazei.

Azatioprina şi metaboliţii săi activi se elimină prin rinichi.

Acţiunea azatioprinei poate fi concretizată în efectele sale imunosupresive şi antiinflamatoare. Imunosupresia este optimă administrînd substanţa în cele două zile care succedă stimulului antigenic.

Datorită celor două efecte, indicaţia majoră a azatioprinei o constituie grefele de organe. În acest sens, rezultate bune s-au obţinut în prelungirea duratei de supravieţuire în grefele de rinichi.

Doza *pro die* este de 0,003—0,005 g/kilocorp, ceea ce reprezintă 200—300 mg/zi. Foarte mulţi bolnavi nu tolerează însă această doză şi chiar la o doză de 50—75 mg/zi fac destul de frecvent leucopenie.

Se prezintă sub formă de tablete a 50 mg.

Azatioprina are indicaţii multiple. Astfel, în transplantele renale, D. Fries o recomandă timp de 7 zile preoperator, iar postoperator, pe o perioadă nedefinită; alţi autori încep la o săptămînă după operaţie. Cri-

teriul de urmărire și de stabilire a dozei îl constituie numărul leucocitelor din sîngele periferic, care nu trebuie să scadă sub 5 000/mm³. Eficacitatea azatioprinei crește prin asociere cu azaserină, însă în acest caz hepatotoxicitatea este mult mai mare.

În practica transplantelor de organe, asociația cea mai frecventă este de azatioprină-prednison și azatioprină-ser antilimfocitar (109).

Administrată mai ales în perioada de incubație, azatioprina pare să prevină encefalita experimentală la iepuri, însă într-un procent scăzut, comparativ cu ciclofosfamida și metotrexatul.

Indicațiile principale ale imuranului sînt reprezentate de nefropatiile cu patogenie imunologică, în special nefropatia lupică, și sindromul nefrotic primitiv cu leziuni glomerulare minime, corticorezistent sau corticodependent; de asemenea, artrita reumatoidă și colita ulceroasă.

Dintre efectele nedorite menționăm: aplazia medulară și infecțiile secundare acesteia, precum și hepatitele infecțioase, consecință a transfuziilor repetate sau a organului transplantat.

Imuranul este contraindicat la femeile în perioada de activitate genitală. Întrucît suprimă rezistența la infecții se recomandă luarea tuturor măsurilor profilactice și administrarea lui numai în condiții de spital.

În concluzie, 6-mercaptopurina și azatioprina sînt buni imunosupresori la om și la cele mai multe specii de animale. Ele acționează asupra tuturor tipurilor de reacții imunitare. Dacă la animale s-a constatat superioritatea terapeutică a azatioprinei asupra 6-mercaptopurinei, faptul este mai puțin demonstrat la om.

c) ANTIPIRIMIDINICELE

Antipirimidinicele sînt derivați halogenați în poziția 5 ai uracilului. Uracilul fiind baza pirimidinică a acidului ribonucleic, este lesne de înțeles că toți derivații săi halogenați îi vor interfera specific sinteza. Datorită acestei activități se utilizează în culturi de țesuturi sau cercetări bacteriologice în care trebuie interferat numai acidul ribonucleic fără alterarea acidului dezoxiribonucleic.

Această grupă cuprinde foarte numeroși produși, dar rar folosiți în clinică. Mai bine cunoscuți sînt: 5-fluorouracilul, 5-fluorouracilul-dezoxiribozidul, 5-bromuracilul, 5-bromodezoxiuridina, 6-azauracilul, 6-azauridina, 6-azatimina, 5-iododezoxiuridina, 5-iododezoxicitidina, arabinozilcitozina.

Dintre aceștia, merită atenție — pentru activitatea lor citotoxică și imunosupresivă — doar 5-fluorouracilul și arabinozilcitozina.

5-Fluorouracilul a fost sintetizat în 1957 de Duschinsky și colab., și de Heidelberger și colab. El inhibă încorporarea uridinmonofosfatului în acidul ribonucleic și transformarea uracilului marcat în timina acidului dezoxiribonucleic; este inhibată transformarea formiatului în gruparea metil a timinei. Rezultă că blochează reacțiile care duc la formarea grupării metil a timinei din acidul dezoxiribonucleic.

Studiind metabolismul 5-fluorouracilului marcat s-a constatat că are un timp de înjumătățire scurt, fiind excretat prin urină în cea mai

Scanned with OKEN Scanner

mare parte în primele 24 de ore, fie nemodificat, fie sub formă de metaboliți ai săi. Restul substanței rămase în organism se concentrează la nivelul măduvei osoase, în ficat, splină, rinichi, intestin.

Se administrează intravenos, în genere în perfuzii cu soluție glucozată izotonică, în doză de 15 mg/kilocorp/zi, timp de 5—7 zile, apoi 7 mg/kilocorp la intervale de 3 zile, pînă la apariția fenomenelor toxice. Cura se repetă de obicei la o lună — o lună și jumătate.

Dintre efectele secundare reținatenția cele digestive, cutanate și mai ales cele de la nivelul măduvei hematopoetice. Astfel pot apărea: grețuri, vărsături, stomatite, enterite, alopecie, dermatite și inhibare a hematopoezei. Fenomenele toxice apar mai rapid și frecvent în caz de asociere a radioterapiei sau a agenților alchilanți. Întreruperea tratamentului este urmată rapid de retrocedarea efectelor secundare.

Arabinozilcitozina (ara-C sau 1-β-*D*-arabinofuranoxilcitozina) a fost sintetizată în 1959. Diferă de nucleotidele normale corespunzătoare prin porțiunea glucidică. Este un antimetabolit activ într-o mare varietate de sisteme biologice, fără a fi superior altor antimetaboliți. Este un antagonist al citozinei, inhibînd imediat sinteza acidului dezoxiribonucleic.

Se administrează intravenos, în doză de 10—30 mg/m²/zi, în perfuzii de 12 ore, timp de 18—20 de zile, și se elimină prin urină în primele ore după injectare.

Singurul metabolit izolat din sînge și urină a fost arabinoziluracilul (ara-U). S-au găsit importante cantități de citidindezaminază în ficat și rinichi, enzimă care convertește ara-C și ara-U.

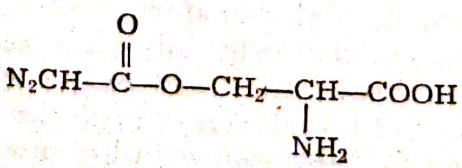
Este mai puțin folosit în practica medicală, cu excepția leucozelor. Efectele secundare seamănă cu acelea ale 5-fluorouracilului: grețuri, vărsături, ulcerații bucale și esofagiene, leucopenie severă, keratite, conjunctivite, alopecie și febră.

d) ANTAGONIȘTII ACIZILOR AMINAȚI

Antagoniștii acizilor aminați, în speță ai acidului glutamic (glutaminei), inhibă sinteza purinelor, și nu a proteinelor. Glutamina reprezintă o treaptă premergătoare a purinei. Există posibilitatea ca și sinteza proteinei purtătoare să fie modificată, dar acest efect are o importanță secundară pentru imunosupresie.

Dintre reprezentanți merită a fi amintită azaserina, un antagonist al glutaminei.

Azaserina este diazoacetilderivatul aminoacidului *L*-serina.



azaserina

Împiedică încorporarea azotului în poziția 3 a ciclului purinic, inhibînd din primele etape sinteza purinribozidelor. Azaserina acționează sinergic cu 6-mercaptopurina.

Doza zilnică maximă este de 10 mg/kilocorp, administrată fie *per os*, fie parenteral. Destul de frecvent pot apărea leziuni gastro-intestinale, hepatice și îndeosebi inhibare a hematopoezei.

L-Asparaginaza este o enzimă care hidrolizează aminoacidul *L*-asparagina, necesar dezvoltării celulelor, inclusiv imunocitelor, ceea ce ne-a determinat s-o includem în acest grup, deși ar fi fost poate mai corect s-o încadrăm în categoria antienzimelor.

În cursul anului 1969, mulți autori au arătat acțiunea imunosupresivă a asparaginazei, îndeosebi asupra reacțiilor de tip umoral în cazuri de respingere a rinichilor transplantați.

Acțiunea ei este destul de rapidă și se folosește în special în tratamentul limfoleucozei acute, mai puțin ca agent imunosupresiv. Se administrează intravenos, 10 u./kilocorp/zi, în perfuzie lentă, aproximativ 28 de zile.

Poate provoca fenomene de hipersensibilitate, scădere a albuminei, fibrinogenului, avînd o ușoară acțiune toxică hepatică. Datorită acestor efecte secundare și mai ales acțiunii hepatotoxice, administrarea clinică este limitată.

II. AGENȚII ALCHILANȚI (CITOTOXICELE)

Un agent alchilant este un compus care posedă două sau mai multe grupări finale (grupări alchil), ciclice sau nesaturate, nestabile, capabile să se lege de alte molecule printr-un atom de oxigen, azot, sulf etc. Astfel, agenții alchilanți sînt substanțe chimice cuprinzînd grupări cloretil sau etilamină, grupări care în soluție apoasă se transformă prin ciclizare în grupări etilenimoniu. Gruparea etilenimoniu prezintă o mare reactivitate, intrînd în reacție cu numeroși radicali (NH_2, SH, OH, COOH etc.).

Deși acești agenți alchilanți sînt folosiți ca citotoxice în afecțiunile maligne, merită să fie reținute proprietățile lor imunosupresive.

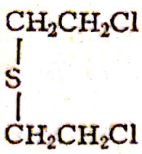
Agenții alchilanți sînt cunoscuți și sub numele de *droguri radiomimetice*, întrucît acțiunea lor biologică generală seamănă cu a razelor X, a radiumului, a radioizotopilor, deși mecanismul acțiunii este diferit. Astfel de exemplu, ciclofosfamida, administrată înaintea antigenului sau pînă la 3 zile după el suprimă răspunsul imun, dar administrarea mai tîrzie este puțin sau deloc eficace în ce privește suprimarea acestui răspuns.

Punctul de plecare privind sinteza agenților alchilanți l-a constituit iperita (gazul mustar, sulf-mustarul), descoperită în 1854 și folosită pentru prima oară ca agent chimic de luptă de germani în 1917. Ulterior au fost sintetizate foarte rapid *azot-iperitele*, analoge azotate ale sulf-mustarului.

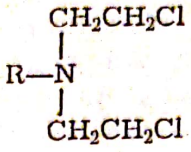
Activitatea biologică a agenților alchilanți se datorește grupării *bis*, β-cloretil. La iperită, aceste grupări sînt legate de sulf, iar la azot-iperită,

Scanned with OKEN Scanner

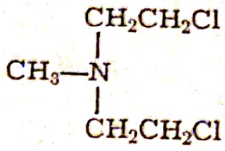
de azot. Azotul fiind trivalent, legat de el întîlnim alţi substituenţi, ceea ce explică existenţa mai multor serii omologe.



sulf-muştar

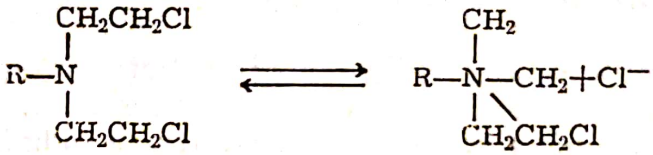


azot-iperită (bază)



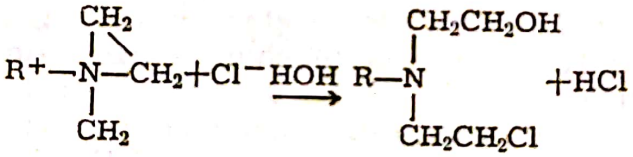
metil-bis (β-*cloretilamină*) *(cloretilamină)*

Ca amină terţiară, azot-iperitele nu prezintă o reactivitate prea intensă, însă în soluţie apoasă neutră sau alcalină suferă o transformare intramoleculară, cu eliberarea ionului Cl şi formarea unui derivat ciclic, etilenimoniu, care este un compus de amoniu cuaternar, cu mare reactivitate chimică.



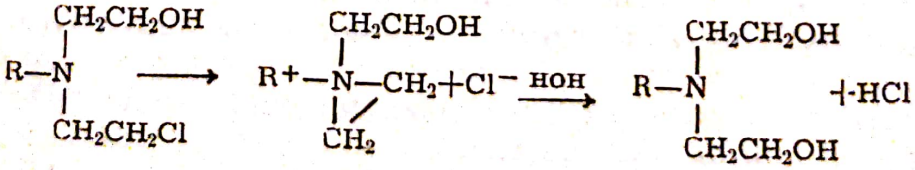
ionul etilenimoniu

În cazul metil-*bis*, ciclizarea se efectuează în cîteva minute, iar etilenimoniul format reacţionează energic cu numeroşi ioni anorganici şi radicali organici. Dacă în soluţie nu se află dizolvată nici o altă substanţă, produsul intermediar reacţionează cu apa:



hidroxietilamina

Ceea ce rezultă este tot o amină terţiară. Aceasta permite ciclizarea internă a celei de-a doua grupări β-cloretil, formîndu-se un alt derivat etilenimoniu, care poate reacţiona la rîndul său cu apa sau cu altă substanţă dizolvată în ea.



dihidroxietilamina

După combinarea celui de-al doilea derivat etilenimoniu, compusul dihidroxietilamină nu mai posedă nici o reactivitate chimică şi nu manifestă vreo acţiune biologică.

Scanned with OKEN Scanner

Din cele de mai sus rezultă că azotiperitele prezintă o mare instabilitate în soluție apoasă, pentru care motiv sînt comercializate sub formă de cristale uscate, dizolvate imediat înaintea injectării.

Acțiunea antineoplazică și imunosupresivă a agenților alchilanți are drept substrat biochimic reacția de alchilare a uneia din grupările NH ale bazei purinice sau pirimidinice a nucleotidelor din constituția acizilor nucleici. Cu cît agentul alchilant posedă mai multe grupări active, cu atît capacitatea sa reactivă este mai mare, alchilînd mai multe grupări NH ale bazelor purinice sau pirimidinice ale aceluiași nucleotid sau ale altor acizi nucleici diferiți.

Alchilarea unei grupări NH_2 a unei baze purinice sau pirimidinice din structura acizilor nucleici are două efecte biochimice:

— legarea bazei respective cu substanța alchilantă, producîndu-se astfel alchil-baze în poziția respectivă (7-alchil-guanina, 7-alchil-adenina, 1-alchil-citozina etc.);

— ruperea lanțului structural în cazul nucleotidului după pierderea bazei sau ruperea legăturii pentoză-acid fosforic.

În cazul proteinelor, reacția se petrece prin intermediul grupărilor carboxil, sulfhidril și α-amino, iar în cazul acizilor nucleici, prin grupările OH— ale acidului fosforic și grupările amino. Dintre acestea, cea mai importantă este reacția agenților alchilanți cu acizii nucleici, care are drept consecință denaturarea lor și în special a acidului dezoxiribonucleic.

În urma modificării acizilor nucleici se produc leziuni și distrugeri ale cromozomilor, cu inhibarea mitozelor și mutații. Este posibil ca agenții alchilanți să acționeze la nivelul enzimelor sau cofactorilor care intervin în sinteza acidului dezoxiribonucleic la nivelul bazelor purinice și pirimidinice, transformîndu-le prin alchilare în antimetaboliți.

Iată acum mecanismul intim de acțiune al agenților alchilanți asupra structurii acizilor nucleici, după Wheeler (1967). El admite pentru cele trei tipuri fundamentale de alchilanți (cloretilamine, etilenimine și derivații acidului sulfonic) o alchilare a unuia sau mai multor centri nucleofili (anioni, grupări aminice, sulfhidrilice, sulfuroase) prezenți în moleculele organice, cu alterări structurale mai mult sau mai puțin intense, care în cazul acidului dezoxiribonucleic blochează mitozele, produce variații cu anulări sau modificări de gene, mutații, alterări ale sintezei nucleoprotidice sau protidice etc.

Sub acțiunea agentului alchilant, acidul dezoxiribonucleic poate suferi două modificări importante:

1. Să fie depurinat prin alchilare, cu sau fără fragmentarea moleculei. Alchilarea produsă duce la ruperea și eliberarea guaninei la nivelul N_7 al guaninei, cu labilizarea legăturii glucozidice dintre ea și restul dezoxiribozei (dR); prin depurinare, liberîndu-se apoi legătura dintre dezoxiriboză și fosfat (P), se ajunge la ruperea lanțului ADN [A+X—P—
—dR(—G)—P—dR—(—C)—P—X ⟶ X—P—dR—P—dR(—C)—P—X+
+G—A ⟶ X—P+dR+P—dR(—C)—P—X], în care:

A=alchilantul; dR=restul dezoxiribozei; P=fosfat; G=guanina.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul unei simple depurinări survin replicarea moleculei de acid dezoxiribonucleic, oprirea sintezei, sărirea unității dezoxiribonucleotidice în chestiune, trecînd direct la următoarea sau la introducerea altei unități în locul celei normale. În ultimele două împrejurări poate rezulta o mutație. În caz de rupere a lanțului ADN, replicarea este oprită la nivelul respectiv.

2. Să nu fie depurinat prin alchilare, și în acest caz să stabilească legături anormale între două puncte ale aceleiași molecule de acid dezoxiribonucleic, cu posibilitatea de a se produce o ruptură între P și dR sau între dR și G prin labilizarea acestor legături [A+X—P—dR(—G)—P—X ⟶ X—P—dR(—P—X)—G—A—G—dR(—P—X) ⟶ 2 X—P+dR(—P—X) sau X—P—dR—G—A—G—dR—P—X+2P—X].

Dacă acidul dezoxiribonucleic o dată alchilat rămîne întreg, se stabilesc prin intermediul alchilantului legături anormale între diverse puncte ale aceleiași spirale sau între duble elice. În primul caz se repetă anomalia în replicare, iar în al doilea, replicarea nu poate fi efectuată prin imposibilitatea separării celor două elice; în ambele cazuri au loc interferențe asupra mitozei.

Agenții alchilanți acționează nu numai asupra structurii acizilor nucleici, ci inhibă și sinteza acestora (mai mult a acidului dezoxiribonucleic decît a acidului ribonucleic):

— blochează utilizarea formiatului în sinteza intermediarilor solubili;

— inhibă neosinteza ribonucleotidelor purinice;

— blochează trecerea de la intermediari solubili la acidul dezoxiribonucleic, prin inhibarea selectivă a ADN-nucleotidiltransferazei.

De asemenea, alchilanții duc la stabilirea unor legături anormale între ADN și ARN, ARN și ARN, ADN sau ARN și proteine etc.

Pe lîngă cele menționate mai sus, alchilanții ar avea și alte acțiuni:

— blochează faza G_2 a ciclului celular;

— inhibă direct sau indirect (prin acizii nucleici) sinteza proteică și, implicit, producția de anticorpi și de proteaze interesate în riposta imunitară celulară;

— suprimă stimulul și proprietățile antigenului, și maschează sau distrug ținta anticorpilor specifici;

— inhibă reacția antigen-anticorp;

— blochează diapedeza, infiltrarea și fagocitoza macrofagelor, limfocitelor și granulocitelor, ceea ce explică intensa lor activitate antiflogistică nespecifică.

S-a constatat că agenții alchilanți scad activitatea enzimelor microzomiale hepatice, potențînd astfel toxicitatea medicamentelor. Cercetările experimentale au arătat că agenții alchilanți inhibă enzimele microzomiale asemănător radiațiilor ionizante.

Philips (1950) a schematizat în felul următor principalele efecte și asemănări dintre agenții alchilanți și radiațiile ionizante:

1. sindroamele letale produse de cei doi agenți terapeutici au numeroase aspecte comune, în special modificările hematologice și leziunile intestinale;

Scanned with OKEN Scanner

2. ambii factori terapeutici au acţiune imunosupresivă;
3. agenţii alchilanţi şi radiaţiile ionizante provoacă anomalii fetale la animalele în gestaţie;
4. capacitatea de inhibare a diviziunii celulare este o proprietate clasică a radiaţiilor ionizante şi unul din efectele citologice importante ale alchilanţilor;
5. anumite neoplasme manifestă o sensibilitate egală, atît faţă de agenţii fizici, cît şi faţă de cei chimici;
6. ambii agenţi terapeutici par să exercite o acţiune relativ specifică asupra cromozomilor şi în ce priveşte capacitatea lor de a determina mutaţii genetice.

Substanţele alchilante imunosupresive sînt împărţite, după structura chimică de bază, în patru grupe:

a) Derivaţii β-cloretilaminei provin din azot-iperită, radicalul alchil fiind reprezentat de gruparea etilenimoniu. Din această grupă fac parte: azot-iperita, oxiazot-iperita, ciclofosfamida, clorambucilul, melfalenul, sinalostul.

Amina terţiară din structura derivaţilor β-cloretilaminei este slab reactivă, însă în mediul apos umoral se ciclizează, trecînd în gruparea etilenimoniu, foarte reactivă.

b) Derivaţii etileniminei au o foarte slabă acţiune imunosupresivă, fiind folosiţi mai degrabă în tratamentul hemopatiilor maligne. Din această grupă fac parte: tretamina (TEM), trietilenfosforamida (TEPA), trietilentiofosforamida (TIO-TEPA), inprocona (E_{39}). Acţiunea lor se datoreşte unui radical care, în mediu uşor acid, se transformă în gruparea activă etilenimoniu.

c) Derivaţii acidului sulfonic, la care radicalul alchil este reprezentat de un ester al acidului metilsulfonic. Cel mai folosit este busulfanul (mileran, citosulfan).

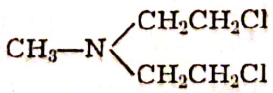
d) Derivaţii N-metahidrazinei, dintre care cel mai utilizat este natulanul.

În cele ce urmează vom prezenta substanţele, fără a insista asupra mecanismelor de acţiune, întrucît cele spuse anterior rămîn valabile pentru fiecare substanţă.

a) DERIVAŢII β-CLORETILAMINEI

azot-iperita *(HN_2, nitrogen mustard, mecloretamina, embihinul, duamina, mustarginul)*

Din punct de vedere chimic, azot-iperita este clorhidratul de metil-di-(2-cloretil)-amină.



azot-iperita

Este livrată în flacoane conţinînd 10 mg substanţă activă + 90 mg clorură de sodiu anhidră, pentru a spori masa pulberii.

Soluția se prepară extemporaneu, dizolvînd substanța cu 10 ml apă distilată sterilă.

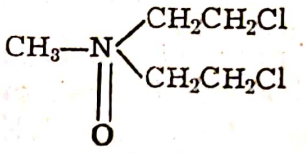
Doza totală este de 0,4 mg/kilocorp, administrată în 2 zile, consecutiv, ceea ce revine la 0,2 mg/kilocorp/zi.

Alți autori o administrează în patru zile, consecutiv. În cazuri excepționale se poate ajunge la doza totală de 0,6—0,8 mg/kilocorp.

Trebuie injectată strict intravenos și controlînd riguros bolnavul, mai ales pe linie hematologică. Cura nu poate fi repetată decît după minimum șase săptămîni și numai dacă aspectul hematologic o permite.

Exceptînd *reacțiile locale* (indurație, ulcerații, flebotromboze, tromboflebite), evitabile prin precauții la administrare (injectare lentă, în soluții glucozate izotonice, strict intravenos), trebuie acordată o atenție deosebită *fenomenelor generale:* tulburări digestive (grețuri, vărsături), depresiuni medulare (granulopenii, trombocitopenii), infecții secundare și tulburări menstruale.

N i t r o m i n u l *(mitomen, nitrogen-mustard N-oxid).* Prin oxidarea azot-iperitei în oxidamină se obține nitrominul, care este deci, chimic, o oxiazot-iperită, respectiv clorhidratul N-oxidului metil-di-(2-cloretil)-aminei.



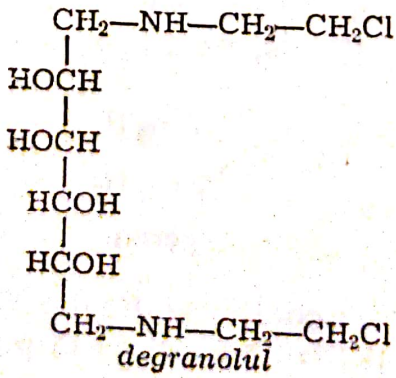
nitrominul

Nitrominul a fost introdus în terapeutică în 1951 de autorii japonezi Ishidate și Yoshida. Are o stabilitate mai mare în soluțiile apoase și o toxicitate mai mică decît azot-iperita. Autorii citați susțin că nitrominul ar fi forma inactivă, „de transport", a medicamentului, care *in vivo,* după pătrunderea în celule, se transformă în forma activă (azot-iperită).

Dozele zilnice variază între 50 și 100 mg, doza totală fiind de 1 000—1 500 mg. Efectele toxice sînt similare cu ale azot-iperitei, însă mai reduse.

D e g r a n o l u l *(manitoliperita, BCM).* Degranolul este (BCM)-biclorhidrat de 1,6-*bis*-(cloretil-amino)-1,6-dezoxi-*D*-manitol, sintetizat de autorul maghiar Vargha.

Iată formula sa chimică desfășurată:



degranolul

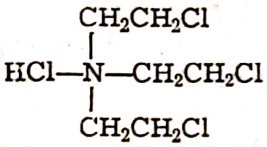
Raţionamentul care a stat la baza sintezei degranolului l-a constituit utilizarea glucidelor sau a substanţelor de tipul lor ca purtătoare de grupări cloretilamine, favorizînd astfel pătrunderea prin membrana celulară.

S-a constatat experimental că ar provoca o degenerescenţă hepatică, de aceea nu se utilizează în insuficienţele hepatice.

Doza folosită în clinică este de 0,8—1 mg/kilocorp/zi sau 50—100 mg zilnic sau la două zile, intravenos sau în perfuzie lentă în soluţie clorurosodică sau glucozată izotonică, doza totală fiind de 1 000 mg.

Efectele secundare sînt mai slabe decît după azot-iperită. Pericolul cel mai grav îl constituie depresiunea medulară, datorită acţiunii remanente a degranolului. De aceea, cura medicamentoasă nu poate fi repetată decît după cel puţin trei luni.

Sinalostul *(embihina nr. 4, trimitanul, clormetinul).* Sinalostul este clorhidrat de tri-(2-cloretil)-amină.

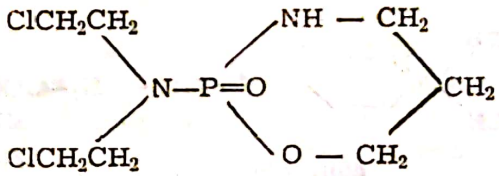


sinalostul

Are aceleaşi proprietăţi, indicaţii şi se prescrie în aceleaşi doze ca şi embihina.

Wilkinson afirmă că accidentele locale ar fi mai rare după sinalost.

Endoxanul *(ciclofosfamida, citoxanul, clafenul, ciclofosfanul, B 518).* Endoxanul a fost sintetizat în 1958 de Arnold, Bomscan şi Brock. Din punct de vedere chimic este esterul ciclic al acidului *N,* N-di-(2-cloretil)-N′-gamma-oxipropildiamid-fosforic.



endoxanul

Ca ester amidic intern al acidului fosforic, sub influenţa fosfatazelor şi fosfamidazelor de la nivelul tumorilor sau al microzomilor hepatici se disociază eliberînd derivaţi de cloretilamină, activi în sens chimic şi biologic.

Timpul de înjumătăţire plasmatică este de 24 de ore; în prima oră se găseşte în plasmă cea mai mare proporţie de metaboliţi.

Endoxanul se prezintă sub formă de tablete a 0,05 g şi fiole a 0,100 sau 0,200 g. Endoxanul românesc poartă denumirea de *clafen* şi se prezintă în flacoane, conţinînd 0,106 sau 0,213 g substanţă activă.

Se poate administra fie pe cale orală, fie intravenos. Doza este de 100—200 mg pe zi, iar cea totală, de 5—8 g. În cazul administrărilor prelungite se poate cumula, toxicitatea sa fiind însă scăzută.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre fenomenele toxice merită a fi reţinute: greţurile, vărsăturile, tulburările hepatice şi renale, infecţiile intercurente, alopecia şi leucopenia.

Modificările hepatice produse de ciclofosfamidă sînt de grade variabile, mergînd de la încărcare grasă şi pînă la necroze celulare, pe suprafeţe destul de întinse. Primele leziuni apar centrolobular şi se întind treptat spre periferia lobulilor, evoluînd concomitent cu stază intertrabeculară. Caracteristice efectului hepatotoxic al ciclofosfamidei sînt:

— leziunile hepatocelulare, care apar la aproximativ două săptămîni după începerea tratamentului;

— evoluţia progresivă a leziunilor;

— concordanţa dintre intensitatea leziunilor şi durata tratamentului.

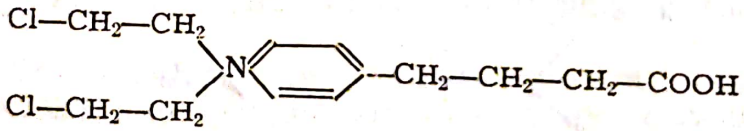
Au fost comunicate unele rezultate satisfăcătoare privind acţiunea sa imunosupresivă în: afecţiunile renale imune, miastenia gravă, hepatita cronică activă etc. (vezi *Partea a treia*).

Aceste date sînt confirmate de altfel de cercetările experimentale pe şoareci, care au arătat că incidenţa afecţiunilor renale severe scade de la 100 la 67%.

Ciclofosfamida este cel mai bun imunodepresor cunoscut la şoarece. Deşi acţiunea imunodepresivă în terapia poliartritei reumatoide şi sindromului nefrotic la om este discutabilă, ea devine certă în alografa renală (experienţa spit. Mecker).

Clorambucilul *(cloraminofenul, leukeranul, CB 1348)*. Clorambucilul a fost sintetizat în 1953 de autorii englezi Everett, Roberts şi Ross, şi introdus în clinică de Haddam şi Galton.

Este un derivat hidrosolubil aromatic al azot-iperitei: acid *p*-di-(2-cloretil)-aminofenilbutiric.



clorambucilul

Ca şi ceilalţi agenţi alchilanţi, principala sa acţiune constă în denaturarea materialelor care servesc la sinteza acidului dezoxiribonucleic şi a acidului ribonucleic. Aceasta se realizează prin ionizarea sa şi eliberarea radicalilor alchilanţi $—CH_2—CH_2$, care se fixează pe gruparea funcţională externă a aminoacizilor şi enzimelor indispensabile, blocînd astfel multiple lanţuri metabolice.

În afara sistării diviziunii şi proliferării celulare, inhibă activitatea secretoare, în speţă secreţia de anticorpi de către limfocite şi plasmocite.

Ceea ce caracterizează clorambucilul este faptul că, în afara acţiunii sale imunosupresive nete şi a uşoarei sale maniabilităţi în practica clinică, posedă şi o puternică acţiune antiinflamatoare, ceea ce-l face extrem de util.

Scanned with OKEN Scanner

Se prezintă sub formă de tablete a 0,002 g, doza zilnică fiind de 0,000 1—0,000 2 g/kilocorp/zi, administrată o dată dimineaţa sau fracţionat în cursul zilei. Doza de întreţinere este de 0,002—0,006 g/zi, cea totală fiind de maximum 300—400 mg. Efectul terapeutic apare după aproximativ 3—4 săptămîni.

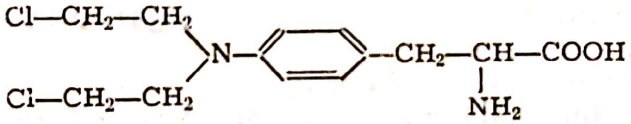
Clorambucilul a fost folosit cu rezultate bune în: *1*) sindromul nefrotic cu glomeruli normali sau leziuni minime, în care corticoterapia este contraindicată sau unde se instalează corticorezistenţa ori corticodependenţa; *2*) sindromul nefrotic cu glomerulită extramembranoasă şi proliferativă difuză; *3*) nefropatia lupică şi cea din purpura reumatoidă; *4*) poliartrita reumatoidă.

Este contraindicat în afecţiunile renale cu leziuni glomerulare proliferative avansate sclerozante sau în insuficienţa renală cronică decompensată.

Efectele secundare ale clorambucilului sînt minime, atît cele gastrointestinale, cît şi cele hematopoetice. Mai frecvent se instalează trombopenii, neutropenii şi agranulocitoze. Histopatologic, după tratamentul cu clorambucil a fost găsită o moderată încărcare grasă, difuză.

S a r c o l i z i n a a fost sintetizată independent de două grupuri de cercetători, în 1953: sovieticii Skodinskaia, Hohlov şi Vasina şi englezii Bergel şi Stock.

Chimic, sarcolizina este clorhidrat de *p*-di-(2-cloretil)-amino-*D*-*L*-fenilalanină. Formula sa chimică este următoarea:



sarcolizina

Sarcolizina se administrează în genere în doze de 30—40 mg/zi, timp de 3—4 săptămîni. Tratamentul se suspendă dacă după acest interval nu apar efectele dorite. Poate fi administrată şi pe alte căi: intravenos, intraarterial, intracavitar, cînd necesităţile terapeutice o impun.

Se administrează în melanoame maligne, mielom multiplu etc. Nu există încă o experienţă a administrării ei în boli autoimune.

Efectele secundare sînt mult mai reduse, în special depresiunea hematologică.

A l k e r a n u l (melfalanul) este un citotoxic din grupa azot-iperitei, structura sa chimică fiind: *N*, *N*-*p*-di-(2-cloroetil)-amino-*L*-fenilalanină.

Se prezintă sub formă de comprimate a 2 mg şi se administrează în doză de atac de 10—14 mg pe zi în primele 7 zile, apoi în doză de întreţinere, de 2 mg/zi, sub control hematologic. Se va întrerupe tratamentul în cazul scăderii leucocitelor sub 2 500/mm^3, granulocitelor sub 1 500/mm^3 şi trombocitelor sub 100 000/mm^3.

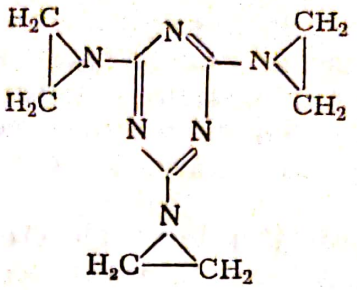
Este contraindicat în caz de leuco-trombocitopenie iniţială, leziuni digestive organice, sarcină, după administrarea unui alt citotoxic, iar în caz de insuficienţă renală, se va reduce doza chiar la jumătate.

Scanned with OKEN Scanner

b) DERIVAŢII ETILENIMINEI

Din acest grup de substanţe, cele mai folosite sînt:

Trietilenmelamina (*TEM*). Trietilenmelamina este 2,4,6-trietilenimino-S-triazină sau 2,4,6-(1-aziridinil)-1,3,5-triazină.



TEM

Primele cercetări clinice au fost făcute de Wright şi colab. (1950), Karnofsky, Burchenal şi colab. (1950—1951).

În afara β-cloretilaminelor, şi alţi compuşi pot fi transformaţi *in vivo* în derivaţi etileniminici. Astfel, TEM e convertit în mediu acid într-un compus foarte activ de etilenimoniu cuaternar, cu proprietăţi chimice asemănătoare produselor de transformare a azot-iperitelor.

Proprietăţile trietilenmelaminei sînt foarte asemănătoare cu ale azot-iperitelor, de aceea are aceleaşi indicaţii. Prezintă unele avantaje:

1. posibilitatea administrării pe cale bucală;

2. efectele secundare şi în special cele gastro-intestinale (greaţă, vărsături) sînt mai atenuate;

3. se poate administra ambulatoriu.

Trietilenmelamina luată pe cale bucală provoacă reacţii mai reduse la nivelul tractului gastro-intestinal. Astfel, anorexia, greaţa, vărsăturile sînt mai uşoare decît dacă se administrează parenteral.

După resorbţia intestinală se combină rapid cu constituenţi celulari. Probabil că aciditatea celulelor organismului este propice transformării trietilenmelaminei în forma cuaternară.

Se prezintă sub formă de tablete a 0,001 şi 0,005 g. Pe cale bucală se administrează în doze de 2,5—5 mg pe zi, timp de 2—4 zile. Ca să nu fie inactivată în stomac de acidul clorhidric, se administrează concomitent 2 g bicarbonat de sodiu. După cele 2—4 zile se face o pauză de o săptămînă, apoi se administrează o dată — de două ori, după care se face un tratament de întreţinere cu doze de 2,5—5 mg, o dată la 5—10 zile.

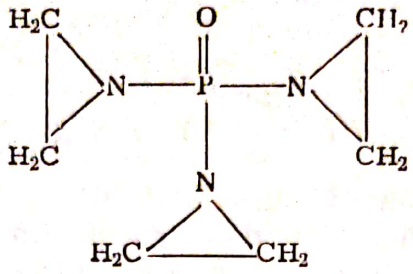
Intravenos se administrează 2—3 mg/zi, timp de 2—3 zile, după care se face o pauză pentru a testa reactivitatea sistemului hematopoetic.

Dintre efectele secundare, merită a fi reţinute leuco- şi trombopenia, care apar la aproximativ 3—4 săptămîni, hematuria şi litiaza urică. Dacă tulburările digestive sînt mai atenuate decît după azot-iperite, în schimb cele hematologice sînt mai grave.

În prezent, trietilenmelamina se foloseşte mult mai rar decît acum 10—15 ani, din cauza efectelor sale secundare.

Scanned with OKEN Scanner

Trietilenfosforamida (*TEPA*) este o *N*, *N'*, *N''*-trietilenfosforamidă, cu următoarea formulă chimică:



TEPA

Proprietăţile trietilenfosforamidei sînt identice cu ale altor etilenimine.

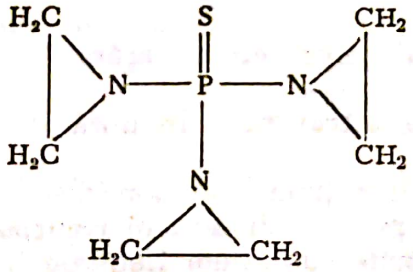
În clinică a fost folosită mai întîi de Farber şi colab. (1953), Sykes şi colab. (1953) şi Wright şi colab. (1955).

Datorită instabilităţii soluţiilor apoase se utilizează sub formă de suspensie 1—2% în ulei de arahide, care se injectează intramuscular.

Doza este de 10—20 mg, de două-trei ori pe săptămînă, pînă la doza totală de 100—175 mg.

Are aceleaşi efecte secundare ca şi TEM.

TIO-TEPA *(trietilentiofosforamida)* se deosebeşte de precedenta prin faptul că atomul de oxigen este înlocuit cu un atom de sulf, fiind deci o *N*, *N'*, *N''*-trietilentiofosforamidă.



TIO-TEPA

A fost studiat intens de Shay şi colab. (1953), Bateman şi colab. (1953—1958), Wright şi colab. (1957—1958) ş.a.

Preparatul românesc poartă denumirea de *girostan* şi se prezintă în fiole a 1 ml soluţie apoasă conţinînd 10 mg de TIO-TEPA. Poate fi administrat intravenos sau intramuscular în doză de 0,8 mg/kilocorp sau, la nevoie, intraarterial, intratumoral şi intracavitar.

Există două metode de administrare a medicamentului: metoda seriilor de tratament şi metoda tratamentului de durată.

În metoda seriilor de tratament, TIO-TEPA se administrează intravenos, în doză de 15 mg, de două-trei ori pe săptămînă, pînă la doza totală de 150—300 mg. Doza totală se stabileşte în funcţie de efectul terapeutic şi de starea organelor hematopoetice. Cînd numărul leucoci-

Scanned with OKEN Scanner

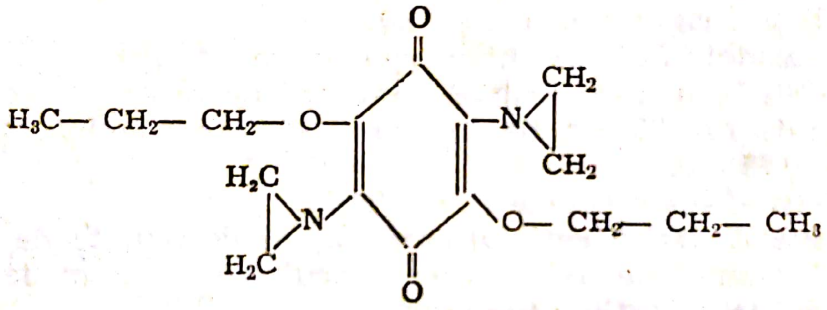
telor scade sub 3 000/mm³, iar al trombocitelor sub 100 000/mm³, se suspendă tratamentul.

Tratamentul de durată se face administrînd intramuscular sau intravenos, inițial o dată pe săptămînă, 10—30 mg, ulterior la 3—4 săptămîni, pînă la obținerea efectului terapeutic. *Per os* se dă în doză de 10 mg zilnic sau la intervale de cîteva zile.

Metoda de tratament va fi aleasă în funcție de particularitățile bolnavului și de boala respectivă.

Superioritatea trietilentiofosforamidei constă în faptul că soluțiile sînt mai stabile, iar efectele secundare (gastro-intestinale, hematopoetice) de intensitate scăzută comparativ cu ale celorlalte chimioterapice. Cu toate acestea, se citează trombopenii severe apărute la aproximativ 1—3 săptămîni după suspendarea tratamentului (epistaxis, peteșii).

E_{39} (inprocona). În 1958, Domagk a sintetizat preparatul E_{39} cu formula chimică: 2,5-*bis*-(1-aziridinil)-*p*-benzochinonă.



E_{39}

În general, cercetările efectuate au arătat că E_{39} este inferior TEM-ului și sarcolizinei.

E_{39} se administrează intravenos, în doză de 10 mg/zi, doza totală fiind de 200—300 mg.

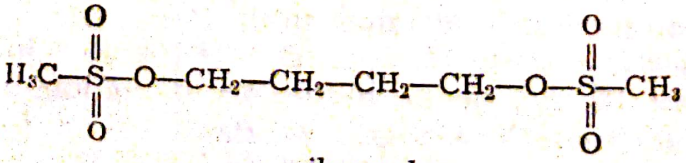
În tratamentul de întreținere se administrează peroral cîte 5 mg (în capsule), de trei ori pe zi, sub control riguros hematologic.

Dintre efectele nedorite subliniem flebitele la locul de administrare, panmieloftizia cu evoluție letală în caz de sensibilitate individuală crescută.

c) DERIVAȚII ACIDULUI SULFONIC

Dintre aceștia, cel mai folosit și important este

Mileranul *(busulfan, citosulfan, mielosan, sulfobutin, GT-41).* A fost sintetizat în 1953 de Haddow și Timmis. Din punct de vedere chimic, este 1,4-dimetensulfonoxibutan, avînd următoarea formulă:



mileranul

Scanned with OKEN Scanner

După cum se vede, mileranul este unul dintre esterii simetrici ai acidului sulfonic, a căror serie a fost studiată pentru a preciza ce efecte se obţin dacă se modifică lungimea punţii metilenice ($n=2$ pînă la 10). Reactivitatea şi valoarea terapeutică maximă o au compuşii de lungime medie.

Acţiunea citotoxică se exercită predominant la nivelul măduvei osoase, în doze mici selectiv pe granulopoeză şi mai puţin pe trombocitopoeză, iar în doze ceva mai mari şi asupra eritropoezei. Ţesutul limfoid şi epiteliul gastro-intestinal par să rămînă neinfluenţate.

Mileranul este activ pe cale orală, fiind resorbit destul de repede din intestin.

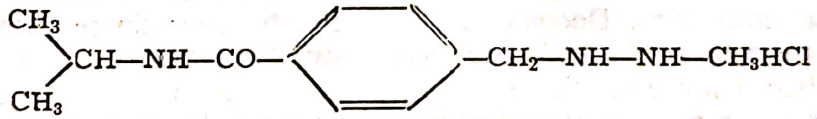
Se prezintă sub formă de tablete a 0,002 g, doza zilnică fiind de 0,006—0,008 g. Tratamentul de întreţinere va fi discontinuu, administrînd 0,004—0,006 g pe săptămînă.

În cursul tratamentului cu mileran s-au constatat efecte toxice secundare, ca trombopenie, aplazie medulară, fenomene de insuficienţă renală consecutivă unei distrugeri mari şi rapide de granulocite, precum şi cazuri de pigmentare cutanată şi amenoree. De asemenea, a fost notată o moderată reacţie de încărcare grasă a ficatului.

d) DERIVAŢII METILHIDRAZINEI

Dintre aceştia, cel mai cunoscut şi folosit în practica medicală, atît ca citostatic, cît şi ca imunosupresor, este metilhidrazina sau natulanul.

N a t u l a n u l *(metilhidrazina, procarbazina DCI, ibenmethipin)*. Din punct de vedere chimic este clorhidrat de α-(2-metilhidrazidă)-*p*-toluamidă. Iată formula desfăşurată:



natulanul ($C_{12}H_{19}N_3O \cdot HCl$)

Efectul imunosupresiv al natulanului rezultă din acţiunea sa citostatică, îndeosebi asupra ţesutului limfatic. Este lipsit de rezistenţă încrucişată faţă de radioterapie, agenţi alchilanţi şi vincaleucoblastină. Mecanismul de acţiune este asemănător radiaţiilor ionizante.

Se prezintă sub formă de capsule a 50 şi 100 mg şi fiole a 250 mg.

Tratamentul de atac începe cu 50 mg/zi, crescînd zilnic cu 50 mg, pînă se ajunge la doza de 250—300 mg zilnic, doza totală fiind de 6—8 g. Pentru tratamentul de întreţinere sînt suficiente 50—150 mg zilnic.

Intravenos se administrează 100—500 mg zilnic, în perfuzii de soluţie glucozată 5%. În tot cursul tratamentului se impune un riguros control hematologic, iar în caz de leuco-trombopenie se va întrerupe provizoriu medicaţia, deoarece tulburările sînt reversibile.

Sînt necesare unele precauţii: la diabetici se va controla periodic glicemia, deoarece natulanul, are acţiune hiperglicemiantă. Se va da o atenţie deosebită celor care iau preparate psihotrope (fenotiazine, barbiturice etc.), întrucît potenţează activitatea acestora.

Scanned with OKEN Scanner

Este contraindicat la cei cu insuficiență medulară, hepatică și renală gravă, precum și în caz de sarcină.

Dintre efectele sale secundare, cel mai frecvent întîlnite sînt trei: medulare (hipo-aplazie medulară cu leuco- și trombopenie consecutivă), digestive (inapetență, greață, vărsături, diaree) și cutanate (urticarie, dermatite exfoliative). Ele pot apărea imediat (la cîteva ore) sau după 2—3 săptămîni de la începerea tratamentului. Pentru combaterea efectelor secundare trebuie administrate uneori piridoxină (300 mg/zi), antibiotice, corticoizi și chiar perfuzii de sînge.

Avantajele natulanului constau în faptul că poate fi administrat după alte imunosupresoare. Se apreciază că 50% din cazuri devin totuși rezistente la tratament după o perioadă de 2 luni — 3 ani.

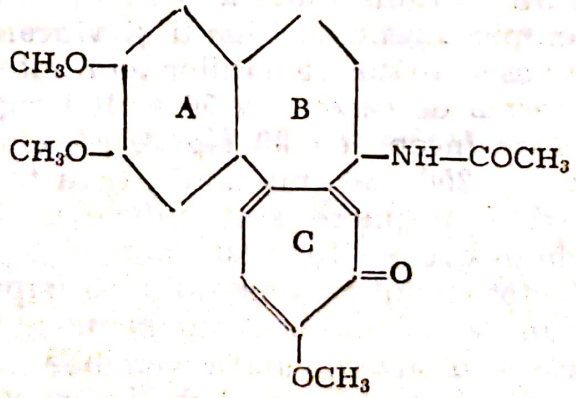
III. ANTIMITOTICELE
(alcaloizii, mitogenele, agenții mitoclazici)

Antimitoticele sînt substanțe naturale care au proprietatea de a bloca mitozele în stadiul de metafază — efect statmocinetic — prin inhibarea energiei de fosforilare, necesară metilării glucidelor, în timpul diviziunii celulare.

De asemenea, aceste substanțe dezorganizează formarea fusului cromozomic, împiedicînd așezarea cromozomilor în planul ecuatorial, de aceea au fost denumite și *substanțe antifus*. Din această grupă, cele mai cunoscute sînt: colchicina, colcemidul, podofilina și alcaloizii din planta *Vinca rosea*.

În ceea ce privește acțiunea imunosupresivă, unii autori o apreciază ca fiind remarcabilă, iar alții consideră că în anumite situații intensifică răspunsurile imunitare. Deocamdată este foarte greu de precizat cînd au acțiune stimulatoare și cînd imunosupresivă. De altfel, nu se cunoaște încă mecanismul lor de acțiune.

Colchicina este un alcaloid extras din bulbul și semințele de *Colchicum autumnale* (brîndușa de toamnă), izolat încă din 1920. Structura sa chimică este următoarea:



colchicina

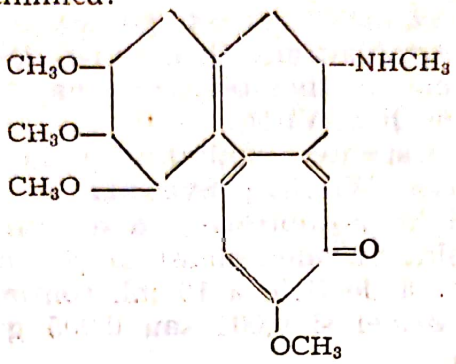
Se poate administra intravenos, intramuscular sau *per os*, în doze de 1,5—3 mg/zi, însă, datorită efectelor sale toxice, destul de puternice,

Scanned with OKEN Scanner

nu a intrat în practica clinică. Cele mai des întîlnite accidente sînt: diareea, deprimarea hematopoezei și polinevritele.

Colcemidul *(demecolcina, omaina)* este un alt alcaloid, dezacetil-meticolchicină, izolat în 1950 de Santavy și Reichstein tot din *Colchicum autumnale.*

Iată formula sa chimică:



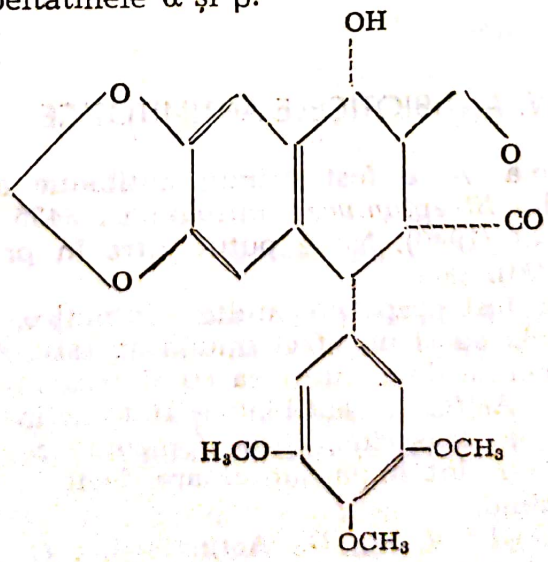
colcemidul

Are acțiune antimitotică și imunosupresivă mai puternică decît colchicina, dar cu efecte toxice mult mai reduse.

Colcemidul se administrează pe cale bucală, în doze de 1—10 mg pe zi, tratamentul durînd 3—6 săptămîni. Pentru tratamentul de întreținere, doza va fi de 1—5 mg/zi. Efectele toxice sînt în general reduse: grețuri, prurit, cădere a părului.

Podofilina este un extract răşinos din rizomii de *Podophyllum peltatum,* plantă din familia *Berberidaceae,* alcătuit din substanțe insolubile în apă. Componentul principal este podofilotoxina. Deși izolată încă din 1880, structura chimică i-a fost clarificată abia în 1950.

Ulterior s-au izolat alți componenți: dezoxipodofilotoxina, dimetil-podofilotoxina și peltatinele α și β.



podofilotoxina

Scanned with OKEN Scanner

Întrucît e folosită exclusiv pentru acţiunea sa antineoplazică (în special în cancerele cutanate), şi excepţional de rar pentru activitatea imunosupresivă (extrem de redusă), nu vom insista în ce priveşte tehnica administrării.

Alcaloizii extraşi din planta *Vinca rosea*. Din frunzele plantei *Vinca rosea* s-au extras pînă la ora actuală peste 30 de alcaloizi. Dintre aceştia, cei mai cunoscuţi pentru acţiunea lor citostatică sînt: *vincaleucoblastina* (vinblastina, VLB, velbe, velban), *leurozina* (vinleurozina, VLR), *vincaleurocristina* (leurocristina, vincristina, VCR, oncovin), *leurozidina* (vinrozidina, VRD).

Primele rezultate terapeutice obţinute cu alcaloizii menţionaţi au fost comunicate de Johnson, Wright şi Svoboda.

În practica terapiei imunosupresive, ca de altfel şi în cea citostatică, cele mai folosite sînt vincaleucoblastina şi vincaleurocristina. Ambele se prezintă sub formă de fiole a 10 ml, conţinînd 0,01 g substanţă activă în cazul vincablastinei şi 0,001 sau 0,005 g substanţă activă în cazul vincaleurocristinei.

Doza este de 0,01—0,03 mg/kilocorp, timp de 2—4 zile, după care se face o pauză pentru a studia reactivitatea măduvei osoase, sau 1—2 mg/m² pe săptămînă. Tratamentul de întreţinere continuă cu aceeaşi doză, o dată la 3—4 săptămîni.

Hunter a arătat că mecanismul de acţiune constă în împiedicarea efectului Pasteur, inhibînd astfel producerea de energie necesară ţesuturilor. VLB şi VCR provoacă apariţia unor micronuclei în celule, influenţînd metafaza şi împiedicînd formarea fusului nuclear.

VLB şi VCR sînt toxici ai joncţiunii neuro-musculare, precum şi ai măduvei osoase, tubului digestiv şi foliculilor piloşi, determinînd astfel tulburări secundare.

Substanţele antimitotice de origine vegetală prezentate mai sus sînt folosite mai rar în practica terapiei imunosupresive, din cauza efectelor lor incerte.

IV. ANTIBIOTICELE ANTIMITOTICE

Actinomicina *A* a fost primul antibiotic antimitotic descoperit, fiind izolată din *Streptomyces antibioticus* 3435 *(Actinomyces)* de Waksman şi Woodroof (1940). Nu a putut intra în practica terapeutică din cauza hipertoxicităţii sale.

În ultimii ani au fost preparate multe antibiotice, care pe lîngă acţiunea lor antitumorală au şi un efect imunosupresiv. Acesta se exercită prin acţiunea lor generală de a interfera cu sinteza proteinelor şi a globulinelor anticorpice. Astfel de antibiotice sînt: actinomicinele *C* şi *D*, mitomicina, puromicina, azaserina, cloramfenicolul, tetraciclinele etc.

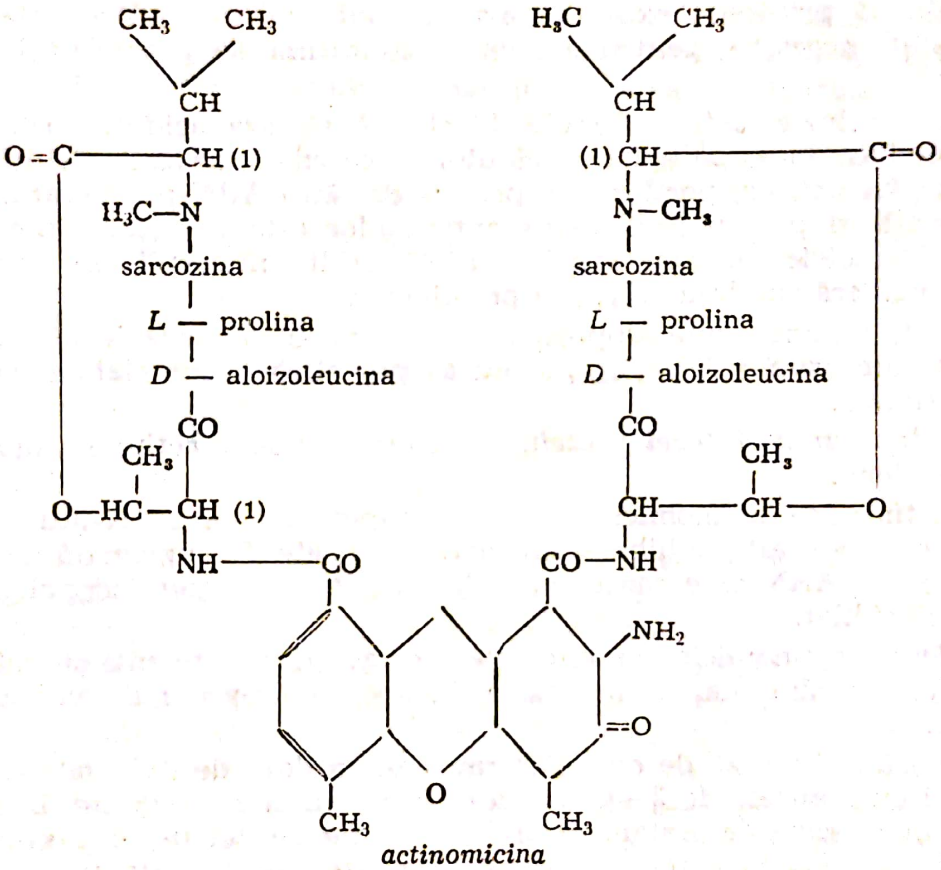
Cele mai multe nu sînt imunosupresoare decît în doze toxice, ceea ce le face greu maniabile.

Actinomicinele *C* şi *D*. Actinomicina *C* a fost izolată de Brockmann, Bohne şi Friedresch (1954) din culturile de *Streptomyces*

Scanned with OKEN Scanner

chrysomalleus (melanocromogene), fiind cunoscută sub numele de *sanamicină*, iar actinomicina *D* a fost descoperită de Manaker și colab. din culturile de *Streptomyces paravallus*.

Din punct de vedere chimic, toate actinomicinele conțin o grupare fenoxazonică cromoforă, de care se leagă un lanț polipeptidic constituit din 8—10 aminoacizi. Actinomicinele se deosebesc între ele numai prin structura și secvența aminoacizilor în lanțul polipeptidic. Astfel, actinomicina *C* este alcătuită din nucleul aminofenoxazonic de care sînt legate două lanțuri polipeptidice, constituite din următorii aminoacizi: *L*-treonină, *D*-aloizoleucină, *L*-prolină, sarcozină și 1-*N*-metilvalină. Actinomicina *D* diferă de actinomicina *C* prin aceea că în locul *D*-aloizoleucinei din lanțul polipeptidic se află *D*-valina.



actinomicina

Actinomicinele *C* și *D*, deși diferă chimic și din punctul de vedere al proprietăților fizice, au totuși efecte terapeutice și toxice asemănătoare.

Acțiunea imunosupresivă a actinomicinelor se exercită prin două mecanisme: *a*) inhibă sinteza acizilor nucleici, *b*) inhibă sinteza proteinelor.

a) *Inhibarea sintezei acizilor nucleici.* Cercetările experimentale și mai ales cele pe culturi de țesuturi au arătat că actinomicinele inhibă specific formarea acidului ribonucleic, pe care o dirijează acidul dizoxi-

Scanned with OKEN Scanner

ribonucleic. Sinteza acidului ribonucleic este de 10—12 ori mai sensibilă la acțiunea actinomicinelor decît a acidului dezoxiribonucleic, deoarece crește activitatea ARN-polimerazei, comparativ cu ADN-polimeraza.

În același sens se înscriu cercetările privind încorporarea H_3-leucinei în proteine sub influența actinomicinelor; ele au demonstrat că actinomicinele inhibă imediat sinteza acidului ribonucleic și mult mai puțin pe a acidului dezoxiribonucleic, sau în final, a proteinelor.

Mecanismul intim al acestei acțiuni se explică prin cuplarea actinomicinelor cu grupările guaninice ale acidului dezoxiribonucleic avînd drept rezultat inhibarea sintezei acidului ribonucleic, dirijată de acidul dezoxiribonucleic. Din cele de mai sus rezultă că inhibarea sintezei acidului ribonucleic produsă de actinomicine este competitivă și poate fi neutralizată printr-un exces de acid dezoxiribonucleic. Resturile guaninice sînt necesare pentru a lega actinomicina de guanină și dezoxiguanină.

În concluzie, actinomicinele blochează sinteza acidului ribonucleic mesager fixîndu-se pe helixul acidului dezoxiribonucleic. Astfel împiedică transcripția (citirea) porțiunii respective de către ARN-polimerază. Aceste date arată că pentru producerea anticorpilor este necesară sinteza unui acid ribonucleic mesager specific, astfel încît anticorpii sînt sintetizați într-o manieră similară cu restul proteinelor.

Deci, acțiunea imunosupresivă a actinomicinelor este legată de efectul acestora asupra $ARN_{mesager}$ și nu asupra altor forme stabile de ARN-citoplasmatic.

b) *Inhibarea sintezei proteinelor* este secundară acțiunii asupra acizilor nucleici.

În timp ce actinomicinele inhibă rapid sinteza ARN-ului, sinteza proteinelor nu este inhibată imediat. Ea poate fi suprimată adăugînd fracțiuni de ARN care conțin probabil ARNm sau adăugînd poliguanilat sau poliuridilat.

Efectul actinomicinelor este inferior agenților alchilanți și radioterapiei, dar ele sînt mai puțin toxice, în special asupra măduvei hematopoetice.

Se administrează de obicei intravenos, în doze de 200—600 μg/zi, în perfuzii cu o durată de 3—4 ore, doza totală fiind de 8 000 μg. Intervalul dintre două cure de tratament trebuie să fie de cel puțin 2 săptămîni.

Dintre efectele toxice menționăm: cheilite, exulcerații linguale, stomatită aftoasă, anorexie, grețuri, vărsături, diaree, micoze (orale, intestinale, vaginale), erupții cutanate de tip eczematos sau eritematos, alopecie parțială sau generală.

Pentru prevenirea lor, Ravina și Pestel recomandă vitamine din complexul B și pantotenat de calciu. Unii autori susțin că actinomicina *D* ar fi un antimetabolit al acidului pantotenic.

M i t o m i c i n a. În 1955—1956, Hate și colab. au extras din filtratele culturii de *Streptomyces capsitosus* un nou antibiotic, alcătuit din mai multe fracțiuni, cea mai folosită fiind mitomicina *C*.

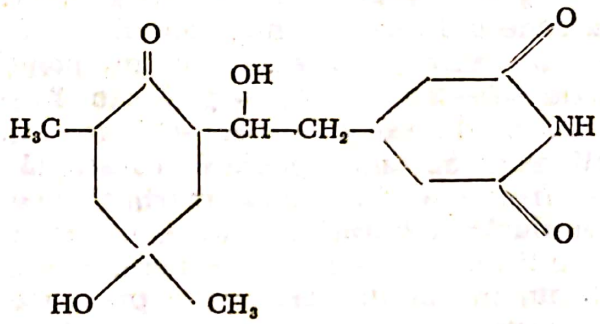
Scanned with OKEN Scanner

După datele lui Reilly (1958), mitomicina are și acțiune antimicrobiană, intervenind ca antimetabolit în stadiile precoce ale sintezei purinelor.

Mitomicina și porfiromicina au un mecanism de acțiune similar: împiedică replicarea acidului dezoxiribonucleic prin legarea catenelor complementare.

Mitomicina *C* se administrează intravenos, în doză de 1—5 mg/zi, pînă la un total de 30—70 mg (chiar 150 mg), sub riguros control hematologic. Leucopenia, agranulocitoza, hemoragiile cutanate, aplazia medulară, mai rar astenia, anorexia și febra, sînt cele mai frecvente fenomene toxice observate după acest tratament.

Streptovitacina *A*. În 1958—1959, Field și colab. au izolat din filtratul culturii de *Streptomyces griseus* streptovitacina *A*. Aceasta este, din punct de vedere chimic: 3[2-hidroxi-2-(5-hidroxi-3,5-dimetil-2-oxociclohexil)-1-etil]-glutarimidă. Iată formula sa desfășurată:



streptovitacina A

Se administrează intravenos, în doze de 0,1 mg/kilocorp/zi, sub control hematologic, hepatic, gastro-intestinal și genital.

Din cauza toxicității sale este puțin sau de loc folosită.

Streptonigrina, un alt antibiotic, a fost izolată de Marsch și colab. (1960) din filtratul culturii de *Streptomyces flocculus*. Posedă un larg spectru antibacterian și un puternic efect antitumoral.

Humphrex și Blank au folosit-o primii în clinică, în 1961, cu rezultate bune. Substanța era administrată în doze de 6—7 μg/kilocorp, timp de 5 zile. Antibioticul e folosit rar, din cauza efectelor secundare nedorite, în special a depresiunii medulare. Astfel, după 3—4 săptămîni de tratament apare leucopenie, ceea ce impune întreruperea administrării. Un alt efect de temut îl constituie tulburările psihice (confuzie mintală).

Puromicina (stilomicina) a fost izolată din culturile de *Streptomyces albo-niger*, în 1952, avînd formula chimică: 6-dimetil-amino-9-(*3'-n*-metoxi-1-fenilalanin-amino-*3'*-dezoxi-beta-*D*-ribofuranozil).

Puromicina blochează sinteza legăturii peptidice prin inserarea ei în lanțul polipeptidic, intrînd astfel în competiție cu acidul ribonucleic. Prin urmare este un antimetabolit, elementul important fiind gruparea 3-amino a ribozei.

Doza folosită este de 3—4 mg/kilocorp.

În afara efectelor lor bacteriostatice şi bactericide, unele antibiotice folosite în practica clinică au şi o oarecare activitate imunosupresivă:

cloramfenicolul concurează cu acidul ribonucleic pentru aceleaşi locuri de fixare pe ribozomi;

tetraciclinele blochează legarea complexului ARN solubil-aminoacid de ribozomi;

streptomicina, kanamicina, neomicina împiedică cuplarea corectă a ARNs (acid ribonucleic solubil) cu ARNm (acid ribonucleic mesager) la nivelul ribozomilor.

Merită să amintim aici două antibiotice recente, folosite în special pentru efectul lor citostatic şi mai puţin sau de loc pentru efectul imunosupresiv:

a) Rubidomicina (daunomicina sau rubomicina) este un antibiotic din grupa antraciclinelor, şi un antimitotic cu acţiune rapidă. Este extrasă din *Streptomicynes coeruleo rubidus*. Se prezintă sub forma unei pulberi roşii, în flacoane a 10 sau 20 mg, solubilă în 2 ml apă distilată, administrată în perfuzii intravenoase în 100 ml soluţie cloruro-sodică izotonică, în doze de 0,5—2,5 mg/kilocorp/zi sau 30—60 mg/m², doza totală fiind de 6—20 mg/kilocorp sau 90—600 mg/m². Dintre efectele toxice merită menţionate: aplazia medulară, constantă, accidentele cardiace, imprevizibile, frecvente după doze mari, şi cele renale tubulare. Mai rar poate să producă: tulburări digestive, ulceraţii bucale, alopecie, crize convulsive, erupţii maculo-papuloase generalizate.

Este contraindicată în caz de cardiopatie preexistentă sau, în orice caz, necesită o supraveghere cardiologică (clinică, radiologică, EKG) foarte atentă. Datorită răsunetului hematologic, se impune de asemenea un control hematologic (central şi periferic) la intervale de cîteva zile.

b) Metil-gagul este un compus sintetic: metilglioxal-*bis*-guanilhidrazină, antienzimă care modifică respiraţia celulară, avînd o acţiune rapidă (2—3 săptămîni). Se prezintă sub formă de pulbere liofilizată în flacoane a 100 mg şi se administrează intravenos (perfuzii) sau intramuscular: 2 mg/kilocorp sau 100—150 mg/m², de trei ori pe săptămînă.

Aplazia medulară şi tulburările digestive sînt cele mai frecvente fenomene toxice (secundare) înregistrate după folosirea metilglioxalului în doze prea mari şi prelungite, ceea ce impune o supraveghere atentă a tubului digestiv şi a sîngelui.

În cazul unor accidente sanguine sau locale se pot face perfuzii de trombocite sau granulocite proaspete, corticoizi şi se reduce doza *pro die*.

V. ALŢI AGENŢI IMUNOSUPRESIVI

Ribonucleazele. Kamrin şi Mowbray sînt primii autori care au arătat, în 1959, că fracţiunea α-globulinică a serului, şi anume ribonucleaza, este capabilă să prelungească supravieţuirea grefelor de piele la şobolan. Aceeaşi acţiune o au polimerii de ribonucleză de origine pancreatică.

Scanned with OKEN Scanner

Ulterior, cercetările experimentale au adus noi dovezi privind acțiunea imunosupresivă a ribonucleazelor serice și a polimerilor de ribonucleaze pancreatice (Boylston și colab.) (88; 85). Iată unele argumente în acest sens:

— secreția de hemaglutinine anti-globule roșii de berbec poate fi total inhibată dacă se injectează ribonucleaze cu 16 ore înaintea eritrocitelor; se poate chiar inhiba un răspuns secundar și induce o toleranță la globule roșii. Dacă ribonucleaza este injectată la 10 sau la 94 de ore după globulele roșii de berbec, poate diminua sinteza de anticorpi, fiind inactivă între cele două perioade;

— injectînd ribonuclează cu 2—4 zile înainte de grefă, aceasta întîrzie respingerea grefelor de piele la șoareci și a grefelor de rinichi la cîine;

— în culturi de țesuturi, în prezența fitohemaglutininei, ribonucleaza inhibă transformarea blastică a limfocitelor, inhibă stimularea culturii prin antigen, distruge limfocitele deja transformate blastic prin fitohemaglutinine.

Din cele de mai sus rezultă că ribonucleazele pot fi imunosupresoare de valoare, acționînd în stadiile precoce ale răspunsului imunitar.

Acidul ribonucleic. În cazul transplantelor de organe, mijloacele de imunosupresie s-au îndreptat îndeosebi asupra primitorului, neglijîndu-se tratarea grefei însăși.

În experiențe pe cîine, Starzl și colab. (1969) au demonstrat că perfuzînd rinichiul 30 de minute cu ARN autolog sau heterolog grefa avea o viabilitate prelungită. Nu s-a remarcat nici o diferență între ARN-ul autolog sau heterolog, ceea ce sugerează că protecția nu era datorită modificărilor induse de ARN în caracteristicile genetice ale celulei.

Același fenomen a fost observat și la om: la pacienții cu arsuri, homografe de piele aveau o viabilitate prelungită dacă fuseseră cufundate în prealabil în ARN.

Virusurile, bacteriile. Deși intră în grupa agenților generali imunosupresivi, considerăm necesar să amintim aici cîteva date care ni se par demne de reținut pentru practica clinică.

Rujeola sau vaccinarea antirujeolică poate să negativeze reacțiile cutanate la tuberculină. De asemenea, introducerea virusului rujeolic într-o cultură de limfocite a unui subiect alergic la tuberculină împiedică transformarea blastică a acestor celule în prezența tuberculinei.

Tot astfel, limfocitele periferice provenind de la copii cu rubeolă congenitală nu răspund *in vitro* la fitohemaglutinină. La fel se comportă și limfocitele normale tratate *in vitro* cu virusul rubeolei.

Virusul gripal este și el capabil să negativeze reacțiile cutanate la tuberculină.

Salaman a arătat recent că unele virusuri oncogene ale șoarecilor și în special virusurile Friend și Maloney au un efect imunosupresiv dacă sînt injectate înaintea unui antigen (101).

Virusurile, ca și alți agenți oncogeni chimici (de exemplu, 3-metilcolantrenul) sau fizici, au în comun proprietatea de a deprima răspunsul imun.

Scanned with OKEN Scanner

Se presupune că tocmai această incompetență imunologică indusă ar favoriza dezvoltarea neoplasmelor (101; Stjernswärd, 1969).

De asemenea, unele bacterii Gram-negative, ca bacilul tusei convulsive (sau vaccinul antipertussis), bacilii paratifici *A* și *B* și extractele lor polizaharidice au acțiune imunosupresivă asupra reacțiilor de hipersensibilitate întîrziată sau de transfer intradermic al limfocitelor.

Acest efect nu se observă dacă produsele respective sînt administrate imediat înainte sau la cîteva ore după antigen. Dimpotrivă, se constată o exaltare a reacțiilor imune dacă sînt administrate mai multe zile înaintea antigenului.

Recent a fost izolat un factor imunosupresiv din componenții citoplasmatici ai streptococilor din grupa *A* (41).

Progestativele de sinteză. Se știe că, în condiții naturale, la femeile gravide scade spontan reactivitatea imunitară (Heslop și colab., 1954). Pe baza acestei observații, unii autori susțin că progesteronul și mai ales unele progestative de sinteză, cum ar fi acetatul de medroxiprogesteron (Provera, Farlutal, Provest, Perlutex), ar avea o acțiune imunosupresivă. Progesteronul ar face ca gravida să tolereze transplantul alogen reprezentat de făt (82). La femeile care primesc progestative de sinteză în scop anticoncepțional s-ar atenua sensibil afecțiunile articulare preexistente. Cu medroxiprogesteron în doză optimă totală de 150 mg (în trei prize, în săptămîna care precedă operația), unii autori (Pelner, Rhoades, 1965; Haines, 1967, citați de 82) obțin prelungirea homotransplantelor cutanate la iepuri cu 2—3 săptămîni.

Aceste date sînt controversate. Încă n-au fost folosite în clinică așazisele efecte imunosupresive ale progestativelor de sinteză; ca anticoncepționale, ele se administrează curent femeilor supuse terapiei imunosupresive de lungă durată cu antineoplazice pentru a preveni efectul teratogen al ultimelor. În aceste situații, acetatul de medroxiprogesteron poate fi administrat continuu pe cale orală, în doze de 1—40 mg/zi, sau intramuscular în doză de 50—100 mg/săptămînă.

Rolul hormonului somatotrop hipofizar (STH) asupra celulelor imunologic competente, și deci asupra răspunsului imun, este azi bine cunoscut.

Pierpaoli și Sorkin (1968), administrînd șoarecelui STH, observă mărirea splinei, înmulțirea centrilor germinativi și îngroșarea coroanei de limfocite perifoliculare.

În ciuda caracterului său de proteină heterologă, serul anti-STH preparat pe iepure provoacă efecte opuse: volumul splinei scade, la fel și numărul centrilor germinativi, iar coroana de limfocite perifoliculare este redusă sau dispare complet.

Imunoglobulinele de iepure neimune duc la efecte net diferite, comportîndu-se ca orice antigen heterolog. Se poate constata astfel că populația celulară a zonei perifoliculare este net influențată de STH sau de serul anti-STH.

Prin aceste efecte, serul anti-STH interferează cu răspunsul imun celular, dar inhibă și răspunsul imun umoral, avînd deci un efect imunosupresiv.

Scanned with OKEN Scanner

La adult, serul anti-STH afectează mai puţin alte ţesuturi în comparaţie cu efectul său de frînare a creşterii pe care îl exercită la nou-născut.

Antiinflamatoarele (antiflogisticele). Existenţa unui factor inflamator cu rol în mecanismul prin care reacţiile efectoare imune lezează ţesuturile i-a determinat pe unii autori să susţină că orice substanţă antiinflamatoare este imunosupresoare (82).

De fapt, antiflogisticele respective sînt substanţe care se opun mediatorilor chimici ai inflamaţiei. Citãm: *antihistaminicele* (119), *antiserotoninele, antibradikininele* (salicilaţii, pirazolonii, fenilbutazona, indandionele etc.), precum şi *antiproteazicele* sau *antipeptidazele, antifibrinolizinele, antihialuronidazicele, vasoconstrictoarele, reductorii permeabilităţii capilare, antiedematoasele, anticoagulantele, antidiapedezantele.*

Se pare că un factor important, precedînd totalitatea fenomenelor biochimice care duc la eliberarea şi activarea mediatorilor chimici ai inflamaţiei, ar fi reprezentat de activitatea proteazelor şi în special a peptidazelor (Frey, 1950; Ungar, 1962 etc.). De aceea, unii autori consideră că, dintre toate substanţele citate mai sus, antipeptidazele merită a fi reţinute în tratamentul imunosupresiv.

Bertelli, Cerati şi colab. (1965) au studiat comparativ activitatea antipeptidazică a numeroase substanţe antiflogistice. S-a ajuns la concluzia că la baza activităţii lor stă tocmai inhibarea peptidazelor. Din acest punct de vedere nu există o activitate specifică unei anumite peptidaze, ci în general faţă de toate peptidazele, însă în grade diferite.

Au fost mai bine studiaţi acidul ε-aminocaproic [NH_2—$(CH_2)_5$—COOH] şi acidul ε-acetamidocaproic [CH_3—CO—NH—$(CH_2)_5$—COOH], cunoscuţi pentru intensa lor activitate antifibrinolizinică şi antiproteolitică, avînd o toxicitate foarte scăzută. Experimental s-au dovedit foarte utili pentru a preveni respingerea grefelor prin:

— inhibarea proceselor de tip proteolitic, declanşate de reacţia antigen-anticorp (Bertelli şi colab., 1965);

— protejarea animalelor de fenomenul Sanarelli-Shwartzman (Bertelli, 1963) şi de şocul anafilactic (Amati, 1962; Zweifach, 1961);

— stimularea axului hipofizo-suprarenal (Atchky şi Bhogavan, 1962);

— inactivarea complementului (Bonmasser, 1963);

— atenuarea diferitelor manifestări exsudativ-inflamatoare (Bertelli, 1962).

Sînt eficace numai pe perioada tratamentului, care poate fi prelungită multă vreme.

Salicilaţii, acidul acetilsalicilic, fenilbutazona sînt considerate medicamente imunosupresive pe baza efectului lor de inactivare a complementului, necesar în reacţiile antigen-anticorp. În acest sens, numeroşi autori au făcut cercetări experimentale (Van Oss, 1961; Lange, 1961; Bonmasser şi colab., 1963).

Fitohemaglutinina, folosită pe scară largă în stimularea culturilor de limfocite, este înzestrată cu proprietăţi imunosupresive, ceea ce a permis folosirea şi în alogrefe, dar fără rezultate remarcabile.

Heparina este de asemenea considerată de unii autori a fi un mijloc imunosupresiv, pe baza acţiunii sale anticomplementare. Ea a fost fo-

losită în special, în tratamentul glomerulonefritelor acute cu mecanisme imunologice, rezultatele fiind promițătoare. Experiența clinică este însă prea redusă pentru a putea trage concluzii certe.

Dat fiind faptul că receptorii membranelor celulare sînt lipoproteine nespecifice (Sarkin, 1962), au fost folosite *proteaze* sau *lipaze* pentru a-i distruge și a împiedica astfel fixarea anticorpilor citofili și, ca urmare, declanșarea reacției imunitare.

e) INCIDENTELE ȘI ACCIDENTELE IMUNOSUPRESOARELOR

Morton, Faber, Gaffner, Cooper, Frei ș.a. subliniază că drogurile imunosupresive provoacă numeroase incidente și accidente, mai ales dacă nu se respectă indicațiile, durata tratamentului și, în special, dozele administrate. Efectele secundare nedorite sînt fie rezultatul exagerării acțiunii principale — citostatice —, acțiune exercitată asupra tuturor celulelor și țesuturilor cu activitate proliferativă intensă, fie al acțiunii particulare, specifice fiecărei substanțe.

Toxicitatea generală a drogurilor imunosupresive și, implicit, apariția efectelor toxice nedorite depind de factori multipli. Astfel:

a) Un produs este cu atît mai bine tolerat cu cît acționează mai selectiv asupra țesutului limfoid și nu lezează măduva osoasă și diferitele parenchime.

b) Modul de administrare, doza și durata tratamentului au o mare importanță în ce privește toxicitatea drogului imunosupresiv, așa cum rezultă din exemplele următoare:

— pentru actinomicină și azaserină, toxicitatea este cumulativă, adică independentă de numărul prizelor, dar legată de doza totală;

— toxicitatea este minimă în cazul tioguaninei și ametopterinei dacă se folosesc doze mari și puțin numeroase;

— în cazul ciclofosfamidei, 6-mercaptopurinei și azatioprinei, toxicitatea e minimă dacă se administrează doze mici, repetate.

c) Metabolismul drogului și mai ales eliminarea renală a drogului însuși sau a metabolitului său activ determină în bună măsură gradul de toxicitate a drogului imunosupresiv. Importanța eliminării renale este dovedită în cazul ametopterinei. Folosirea ei în caz de insuficiență renală duce la o creștere intensă și de durată a nivelului sanguin al substanței, ceea ce determină un număr foarte mare de accidente toxice.

Cu toate acestea, importanța eliminării urinare a produselor active nu este dovedită pentru ceilalți antimetaboliți și agenți alchilanți. Astfel, în cazul 6-mercaptopurinei sau imuranului, eliminarea urinară nu depășește 5% din doza administrată. Aceasta ar însemna ca toxicitatea să fie foarte crescută în caz de defect de eliminare urinară. Totuși, după cum arată cercetările, curba nivelului sanguin al activității imunosupresive, determinată prin inhibarea rozetelor *in vitro*, este aceeași la subiectul normal și la bolnavii binefrectomizați.

d) Administrarea unor substanțe o dată cu imunosupresoarele le poate crește activitatea și scădea gradul de toxicitate. Astfel, administra-

Scanned with OKEN Scanner

rea acidului folinic după o doză mare de metotrexat îl face să fie bine tolerat, fără a-i scădea efectul imunosupresiv.

Un alt exemplu îl constituie la șoareci administrarea alopurinolului, inhibitor al xantinoxidazei, o dată cu 6-mercaptopurina, căreia îi mărește de patru ori efectul imunosupresiv.

În general, drogurile imunosupresive sînt toxice asupra celulelor organismului cu un înalt grad de multiplicare și cu o sensibilitate crescută față de acestea: organe hematopoetice, epiteliul tubului digestiv, organe genitale, foliculii piloși. De altfel, așa se explică frecvența crescută a accidentelor din partea structurilor menționate la acțiunea substanțelor citostatice-citotoxice.

Incidentele și accidentele pot fi *imediate* („acute") și *tardive* (îndepărtate). Tulburările secundare imediate apar chiar din momentul administrării substanței sau la cîteva ore și se manifestă îndeosebi prin grețuri, vărsături și fenomene nervoase. Tulburările tardive apar la 6—12 zile de la administrare, prezentîndu-se cel mai des ca manifestări hematologice, digestive și infecțioase.

Costăchel și colab. reunesc efectele secundare ale citostaticelor sub numele de *boala citostatică,* prin analogie cu „boala de iradiere". În acest sens, ei consideră că boala citostatică prezintă două aspecte:

1. *boala citostatică primară* însumează totalitatea tulburărilor apărute ca urmare a acțiunii loco-regionale sau generale a citostaticelor;

2. *boala citostatică secundară* cuprinde toate manifestările apărute în urma încercărilor de a trata diferite aspecte ale bolii citostatice primare, îndeosebi dacă acestea sînt mai intense (transfuzii, transplant de măduvă, droguri cu efect citostatic, corticoizi).

În cadrul *bolii citostatice primare,* tulburările pot fi sistematizate astfel:

a) Sindroamele loco-regionale sînt produse prin chimioterapia regională, constînd în reacții inflamatoare pînă la necroze ale pielii, seroaselor, mușchilor, nervilor, vaselor. Acestea sînt destul de frecvente la azot-iperită și derivați și mai rare la celelalte droguri imunosupresoare.

Acțiunea iritantă asupra pielii se produce la contactul cu pulbere sau soluție concentrată de azot-iperită și se manifestă prin apariția unei leziuni eritemato-veziculoase.

Atingerea accidentală a conjunctivelor cu mîinile care au manipulat azot-iperită provoacă hiperemie și edem conjunctival (chemosis), hipersecreție lacrimală (epiforă), jenă la clipit. În acest caz trebuie făcute spălături abundente cu apă.

Inhalarea vaporilor de azot-iperită irită mucoasa respiratoare, prin acțiunea exercitată asupra glandelor secretoare. Apar foarte rapid accese de tuse, la început seacă, iar după 2—3 ore productivă, cu spută seromucoasă.

Acțiunea asupra endovenei apare la soluții concentrate de azot-iperită și mai puțin de endoxan, TEPA, TIO-TEPA. Clinic, bolnavii pot prezenta dureri sau senzație de arsuri la locul injectării sau pe întreg

traiectul venos, în timpul sau la cîteva ore după administrarea substanței. Alteori pot apărea flebite chimice. În aceste situații se suspendă 2—3 săptămîni injectarea în vena respectivă, se pun comprese reci, se prescriu antiinflamatoare nespecifice. Administrarea concomitentă a heparinei pare să prevină apariția acestor accidente locale și mai ales flebitice.

Injectarea paravenoasă poate produce reacții locale de diferite grade, mergînd de la dureri intense la locul respectiv, tumefiere a părților moi pînă la necroze întinse, ulcerații. În aceste cazuri se vor lua următoarele măsuri: pungă cu gheață local, soluție cloruro-sodică izotonică injectată local pentru a dilua toxicul respectiv, novocainā (xilină) local ca anestezic pentru calmarea durerii și injecții cu tiosulfat de sodiu în soluție cloruro-sodică izotonică (0,11 M) care, datorită radicalului tiol, intră ușor în reacție cu citostaticul aflat în țesutul paravenos.

Din cele de mai sus rezultă că trebuie respectate administrarea strict intravenoasă, injectarea lentă și în soluții diluate, eventual administrarea prealabilă a unui anestezic local (novocainā, xilină) sau concomitent heparină.

b) Sindroamele extraregionale sînt provocate de chimioterapia sistemică (orală, intravenoasă, intraarterială ș.a.) sau de extinderea extraregională a drogurilor.

α) *Hipo-aplazia medulară* reprezintă cel mai grav accident hematologic. În general este rară, apărînd în primele două luni ale tratamentului. Hipo-aplazia precoce este rapid reversibilă, în cîteva zile de la oprirea tratamentului, în timp ce hipo-aplazia tardivă este durabilă, severă și, o dată apărută, expune la pericolul unei infecții supraadăugate.

Hipo-aplaziile medulare apar ca rezultat al supradozării drogului respectiv sau al sensibilității medulare crescute, ceea ce impune, fie scăderea posologiei sau oprirea tratamentului, fie schimbarea chimioterapicului.

Hipo-aplaziile medulare interesează una sau mai multe serii celulare, cu răsunetul său periferic: leucopenie, anemie, trombocitopenie sau pancitopenie. În majoritatea cazurilor, accidentele hematologice pot fi prevenite, aplicînd tratamentul sub un riguros control hematologic și întrerupîndu-l dacă leucocitele scad sub 1 500/mm^3, iar trombocitele sub 50 000/mm^3. În cazul în care 75% din leucocitele respective sînt neutrofile sau dacă scad limfocitele, acestea nu sînt motive de îngrijorare.

Nu trebuie uitate niciodată efectele cumulative ale drogurilor imunosupresive, care pot apărea vreme de 1—2 săptămîni după sistarea tratamentului.

În orice caz, cercetarea inițială și la 3—4 zile a numărului de elemente figurate din sîngele periferic constituie un bun criteriu de urmărire și eficiență a tratamentului imunosupresiv sau citostatic.

Leucopenia este cea mai frecventă manifestare hematologică întîlnită în cursul administrării drogurilor imunosupresive.

Se știe că acestea interferează metabolismul acizilor nucleici, tulburînd sinteza proteinelor și, în consecință, scăzînd capacitatea de regenerare a elementelor figurate. Întrucît leucocitele au cea mai mare capacitate de regenerare (viața unui leucocit durează cîteva zile pînă la o

săptămînă, iar a unui eritrocit 3—4 luni), este lesne de înţeles că ele vor fi cel mai frecvent afectate de această medicaţie. Pînă în prezent nu există vreo posibilitate de a împiedica acest accident, iar agranulocitoza survine foarte rar, ceea ce explică incidenţa scăzută a infecţiilor.

Anemia este o tulburare hematologică mai rară decît precedenta, mai puţin periculoasă, întrucît numărul eritrocitelor scade moderat şi revine destul de rapid la normal după oprirea tratamentului. Anemia apare mai frecvent după antifolice, însă dispare după 2—3 săptămîni; revenirea este mai rapidă dacă se administrează acid folic (5—10 mg/zi).

Trombocitopenia apare mult mai rar şi tardiv decît leucopenia şi anemia; se manifestă printr-un sindrom hemoragipar (de obicei, gingivoragii, sîngerări ale tubului digestiv, purpură trombocitopenică). Dacă se administrează azot-iperită şi derivaţi, pe lîngă trombocitopenie poate să apară hiperheparinemie, care agravează manifestările hemoragice. În asemenea cazuri se recomandă un tratament cu protamină.

Trombocitopenia nu necesită vreun tratament special şi dispare destul de repede după suspendarea medicaţiei. Este de reţinut însă că apariţia trombocitopeniei impune suspendarea tratamentului.

Tratamentul accidentelor sanguine va urmări redresarea indicilor sanguini prin perfuzii de masă leucocitară, trombocitară, eritrocitară sau sînge integral la nevoie, iar în cazurile grave, homotransplant de măduvă osoasă, precum şi terapia sindromului hemoragipar, prin perfuzii de masă trombocitară sau medicamente de creştere a rezistenţei peretelui vascular.

β) *Accidentele infecţioase* survin prin deprimarea funcţiei imunitare a organismului (scăderea sintezei de imunoglobuline, leucopenie etc.), fără ca aceasta să fie observată în egală măsură pentru toate imunosupresoarele. Astfel, azatioprina determină rar dezvoltarea infecţiilor, întrucît respectă imunitatea de tip umoral, aşa cum o arată cercetarea anticorpilor circulanţi. În general se constată infecţii locale sau septicemii, cu germeni banali, specifici sau virusuri (herpes, zona, varicela, oreion etc.). Alteori se pot adăuga unele parazitoze (pneumopatie cu *Pneumocystis carinii),* micoze. În cadrul accidentelor infecţioase, un loc important îl ocupă infecţiile respiratoare şi îndeosebi bronhopneumoniile. În toate cazurile trebuie identificat agentul infecţios, testîndu-i sensibilitatea şi administrînd antibioticul respectiv, sub controlul curbei febrile.

Mulţi autori fac profilaxia infecţiilor survenite după terapia imunosupresivă prin administrarea unor doze mici de antibiotice (penicilină, tetracicline) sau γ-globuline.

γ) *Manifestările digestive* sînt relativ frecvente şi de intensitate variabilă în cursul terapiei imunosupresive. Ele se datoresc fie acţiunii iritante locale sau asupra epiteliului tubului digestiv, fie acţiunii asupra centrilor nervoşi. Dintre tulburările digestive, un loc important îl ocupă inapetenţa, greţurile şi vărsăturile. Mult mai rar decît acestea pot apărea gastralgii, uneori de intensitate mare, care se cer a fi recunoscute. Precocitatea apariţiei lor depinde de calea de administrare şi de doza drogului respectiv. Astfel, dacă substanţa este administrată per oral, manifestările apar după 1—3 săptămîni şi se datoresc acţiunii directe asupra tubului

Scanned with OKEN Scanner

digestiv; dacă este administrată parenteral, inapetența, grețurile și vărsăturile pot apărea din momentul injectării sau cel mai tîrziu a doua zi. În acest caz, mecanismul de producere este diferit de precedentul: apar ca o consecință a acțiunii medicamentului asupra centrului vărsăturii din bulb. În general, vărsăturile dispar la aproximativ cîteva ore după sistarea tratamentului, în schimb inapetența și grețurile se pot menține cîteva zile. De multe ori, apariția vărsăturilor obligă la întreruperea tratamentului.

Pentru combaterea sau profilaxia tulburărilor digestive amintite stau la dispoziție următoarele mijloace terapeutice: barbituricele, care să atenueze excitabilitatea centrilor nervoși, de tipul pentobarbitalului sau secobarbitalului, în doze de 0,3—0,4 g sau amital sodic *per os* (0,2 g) la 3—4 ore de la administrarea citotoxicului; antiemeticele — derivații fenotiazinici, de tipul largactilului, *per os* sau injectabili; piridoxina, în doză de 150—200 mg, intramuscular. La folosirea antiemeticelor se va avea în vedere că administrarea lor exagerată duce la atenuarea acțiunii principale a drogului imunosupresiv.

Diareea apare în caz de tratamente prelungite și în doze mari cu droguri imunosupresive, realizînd histopatologic leziuni de intensitate variabilă, pînă la denudarea epiteliului intestinal. Clinic se poate întîlni aspectul de enterită hemoragică gravă, mergînd pînă la perforație intestinală. Acțiunea intensă la nivelul tubului digestiv se explică prin marea capacitate de regenerare pe care o are epiteliul său, iar medicamentele respective influențează tocmai aceste țesuturi. De regulă, aceste tulburări intestinale apar în cursul tratamentului cu antifolice.

Datorită gravității acestor manifestări, se recomandă întreruperea tratamentului, administrarea acidului folic (10—20 mg/zi) sau a derivaților săi (leucovirin=30 mg/zi, în 3—4 prize, intramuscular). *Stomatitele, faringita, esofagita* și *gastritele* se întîlnesc rar și sînt mai puțin intense, fiind provocate în special de tratamentul cu antifolice. Rareori, pot îmbrăca același aspect histopatologic ca enterita hemoragică, ducînd la hemoragii digestive sau perforații. Se pare că mai frecvent se întîlnește stomatita ulceroasă, care poate duce la gangrena părților moi ale feței și gîtului.

δ) *Tulburările hepatice* au fost mai bine cunoscute în ultimii ani, datorită folosirii acestei medicații în tratamentul unor hepatopatii cronice cu componentă imunologică manifestă și extinzîndu-se practica biopsiei hepatice.

Apariția leziunilor hepatice și îndeosebi a hepatitelor de origine virală, în cursul sau la scurt interval după administrarea drogurilor imunosupresive, este relativ frecventă. Evidențierea antigenului australian este o confirmare în acest sens.

Referitor la gradul toxicității diferitelor grupuri de droguri imunosupresive, părerile sînt împărțite: unii autori consideră că antimetaboliții au cel mai puternic efect hepatotoxic, iar alții îl atribuie ciclofosfamidei. Neconcordanța acestor păreri rezidă în folosirea citostaticelor în doze (zilnice și totale) mult mai mari în ultimii ani față de trecut, pentru efectul lor imunosupresiv.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul acţiunii hepatotoxice a imunosupresivelor nu este încă bine precizat: acţiune directă, sensibilizare, tulburări enzimatice? În orice caz, se va supraveghea starea ficatului în cursul oricărui tratament cu droguri imunosupresive şi mai ales în bolile hepatice imunologice: hepatita lupoidă, ciroza biliară primitivă etc.

Din punct de vedere histopatologic, leziunile hepatice apărute după imunosupresoare pot fi grupate în două categorii:

— leziuni distrofice de intensitate moderată, apărute la două-trei săptămîni după instituirea tratamentului cu melfatan, purinetol, busulfan şi clorambucil, şi care dispar după alte două săptămîni, chiar dacă se continuă tratamentul;

— leziuni de intensitate diferită, mergînd pînă la necroză celulară, apărute la două săptămîni după un tratament cu ciclofosfamidă, cu evoluţie progresivă, paralel cu durata şi posologia.

Manifestările clinice ale leziunilor amintite se concretizează: *subiectiv*, prin astenie fizică şi psihică, dureri în hipocondrul drept; *obiectiv*, prin coloraţie subicterică sau icterică a tegumentelor şi sclerelor, hepatomegalie moderată, uneori discretă ascită; *biologic*, prin teste de labilitate serică pozitive, transaminaze crescute corespunzînd leziunilor de citoliză, în special centrolobulară.

Evoluţia leziunilor hepatice şi a manifestărilor clinice este de obicei favorabilă; remisiunea survine după 2—3 săptămîni, chiar dacă se continuă tratamentul. Foarte rar leziunile progresează, ajungînd la ciroză hepatică şi exitus.

Practica folosirii drogurilor imunosupresive în clinică arată că datele obţinute experimental nu pot fi extrapolate şi că, în general, ele sînt utilizabile nu numai cînd ficatul este indemn, dar şi în caz de leziuni minime, cu condiţia supravegherii atente.

ε) *Manifestările cutanate* sînt variabile ca aspect clinic: eriteme, erupţii maculo-papuloase, prurit, urticarie, eczemă, edem Quincke, căderea părului etc.

Eritemele, erupţiile maculo-papuloase, pruritul, urticaria sau *edemul Quincke* pot avea intensităţi diferite; ele apar la cîteva zile şi dispar spontan, fără a putea fi incriminat un mecanism alergic în declanşarea lor, deoarece nu se repetă la administrări ulterioare.

Herpesul zoster este relativ frecvent în cursul terapiei cu agenţi alchilanţi şi al radioterapiei, fiind produs de exacerbarea infecţiei herpetice latente. El poate fi zgomotos clinic, obligînd la întreruperea tratamentului.

Existenţa *plăgilor traumatice* sau *operatoare* contraindică folosirea drogurilor imunosupresive, datorită întîrzierii cicatrizării lor.

Alopecia, mai frecvent întîlnită după antimetaboliţi şi ciclofosfamidă, apare imediat sau la 2—3 săptămîni după aplicarea tratamentului, fiind în funcţie de doza folosită. Se datoreşte acţiunii toxice asupra celulelor generatoare situate în vecinătatea papilei (celule cu mare capacitate de regenerare), oprindu-se astfel regenerarea filamentului pilos şi a tecii epiteliale interne. Părul se regenerează în 2—3 luni după sistarea medicaţiei, datorită mugurilor care cresc din teaca epitelială externă.

Scanned with OKEN Scanner

ζ) *Accidentele reno-urinare* sînt mai rare decît precedentele și se manifestă diferit: proteinurie discretă, hematurie microscopică, cistită hemoragică (ciclofosfamida) și accidente litiazice. Dintre acestea, cel mai frecvent apare litiaza renală în urma distrugerii celulelor și în special a leucocitelor, cu eliberare crescută de acid uric, care poate precipita în urină, producînd dureri lombare sau colici nefretice. Survine frecvent după mileran, mult mai rar după alte imunosupresoare. Profilactic, se va asigura o diureză abundentă prin ingerare de lichide corespunzător, alcalinizarea urinilor prin administrare de bicarbonat de sodiu sau citrat de sodiu la intervale de 3—4 ore sau săruri de magneziu care menţin cristaloizii în soluţie, împiedicînd precipitarea lor. Cu scop profilactic poate fi folosit renogalul (10 picături×3/zi), care asigură o diureză satisfăcătoare.

η) *Tulburările sexuale* se constată mai rar la dozele folosite pentru terapia imunosupresivă decît pentru cea citostatică. Ele se manifestă diferit, după sex. Astfel:

— *la bărbat,* drogurile imunosupresive lezează celulele seminale, alterînd procesul de creștere și maturare a spermatogoniilor, cît și transformarea spermatidelor în spermatozoizi. Numărul spermatozoizilor scade, ajungîndu-se la azospermie sau la reducerea capacităţii lor de fecundare;

— *la femeie,* medicaţia imunosupresivă inhibă maturaţia foliculilor ovarieni, tulburînd ciclul menstrual pînă la hipomenoree sau amenoree. La cîteva luni după sistarea tratamentului, ciclul se normalizează, ceea ce pledează pentru caracterul temporar al leziunilor.

θ) *Efectele teratogene* sînt în funcţie de doi factori: drogul folosit și vîrsta sarcinii. Unii autori consideră că apar mai frecvent după antimetaboliţi (în special antifolice), iar alţii, după agenţii alchilanţi. Dacă din acest punct de vedere nu există un acord unanim, este sigur însă că survin mult mai des în primele 3 luni și ultimul trimestru al sarcinii. Rezultă de aici că incidenţa malformaţiilor fetale este cu atît mai mare cu cît e embrionul mai mic. Comparînd influenţa exercitată asupra mamei și a fătului, embrionul este mult mai afectat decît mama, deoarece se află într-o intensă activitate de multiplicare celulară; or, trecînd prin placentă în sîngele fetal, aceste droguri interferează metabolismul acizilor nucleici, producînd diferite malformaţii. Se cunosc însă cazuri de copii normali născuţi din mame tratate în cursul sarcinii cu droguri imunosupresive. Fără îndoială însă că avorturile sînt mult mai frecvente la gravidele care urmează acest tratament.

În concluzie, practic, medicaţia imunosupresivă este contraindicată în sarcină, iar cînd necesităţile o impun, există pericolul malformaţiilor.

ι) *Acţiunea mutagenă* este rar menţionată la animale în caz de administrare a citostaticelor în scop imunosupresiv.

Mecanismul intim biochimic este legat de intervenţia substanţelor respective în metabolismul acizilor nucleici celulari. Survin tulburări biochimice și funcţionale ale interrelaţiei ADN-ARN-proteine, apărînd proteine noi, modificate structural. Apar astfel structuri celulare diferite morfologic și funcţional de celula de origine, realizîndu-se o modificare a codului genetic, cu consecinţele sale — mutaţiile celulare. Datorită

Scanned with OKEN Scanner

acestui fapt pot apărea tumori maligne cu diferite localizări (experimental, la animale). Recent s-au comunicat cazuri de tumori limforeticulare la subiecţii trataţi cu imunosupresoare. Nu s-a putut dovedi însă că tratamentul imunosupresiv a favorizat sau generat apariţia unei formaţiuni maligne la om (Scheifferth, 1970).

În orice caz, este de reţinut că acţiunea carcinogenă şi teratogenă a imunosupresoarelor interzice total procrearea în cursul terapiei cu aceste substanţe.

x) *Tulburările enzimatice* sînt menţionate rar, deoarece, de regulă, rămîn fără expresie clinică, deşi practic sînt constante în cursul terapiei imunosupresive, în special cînd se folosesc agenţii alchilanţi. Dovada în acest sens a fost adusă de cercetările histochimice şi enzimologice asupra ţesuturilor normale, care au semnalat modificări importante ale mitocondriilor, purtătoare ale sistemelor enzimatice fundamentale pentru viaţa celulară.

S-a demonstrat că NAD (nicotinamidadenindinucleotid, codehidraza I) şi NADP (nicotinamidadenindinucleotid-fosfat, codehidraza II) sînt factori coenzimatici esenţiali ai glicolizei anaerobe şi ai oxidărilor aerobe. Numeroase enzime celulare sînt dependente de sistemul NAD-NADP. Astfel, lacticodehidraza, gliceraldehid-fosfatdehidrogenaza, glutamicdehidrogenaza, malicdehidrogenaza sînt NAD-dependente, iar dehidrogenaza izocitrică, glucozo-6-fosfatdehidrogenaza, glutationreductaza, sînt NADP-dependente.

Nivelul seric normal al NAD este de 16—22 micrograme/ml sînge. Sub acţiunea endoxanului, de exemplu, se poate ajunge la un nivel seric critic — sub 12 micrograme/ml sînge —, cu leucopenii severe, alterări structurale ale sistemului ADN-ARN proteine, mutaţii celulare. Normalizarea nivelului seric al NAD precedă normalizarea leucocitelor.

Blocarea glicolizei (şi în special a celei anaerobe) de către citostatice a fost folosită drept criteriu de eficienţă a tratamentului cu aceste droguri, considerîndu-l drept cel mai activ pe acela care inhibă cel mai mult glicoliza anaerobă.

Boala citostatică secundară se manifestă prin două tipuri de tulburări:

a) sindroame medicale, cuprinzînd: *sindroame imunologice* (secundare transfuziilor sau transplantării de măduvă osoasă), *accidente de tehnică* (embolii gazoase, trombo-embolii, reacţii alergice), *accidente infecţioase* (hepatită virală indusă prin transfuzii), *sindroame medicamentoase* la droguri cu efect autocitostatic (vitamine, leucoprotectoare, antibiotice, ADN, acid folic, adenină, pentoxil, tezan), *sindroame induse de corticoizi* (accelerare a metastazării în epitelioame, sarcoame, leziuni hepatice);

b) sindroame chirurgicale, secundare cateterismelor arteriale, prin embolii gazoase, perforări arteriale la fixarea cateterului, prin obstruare a lumenului cateterului, tromboze etc.

Toate aceste manifestări, secundare încercărilor de a proteja pacientul de boala citostatică primară, au fost descrise de Costăchel şi colab.

Scanned with OKEN Scanner

sub numele de *sindroame de disprotecție*, de fapt același lucru cu boala citostatică secundară.

În clinică, efectele primare sînt uneori greu de diferențiat de cele „disprotective" (secundare). Important este că trebuie tratate concomitent, atît boala de fond, cît și boala citostatică, primară sau secundară.

În tratamentul sindromului citostatic primar, problema principală constă în a aprecia, în fiecare etapă, gradul competenței imunologice restante. În acest scop pot fi folosite unele teste experimentale sau clinice, utilizînd stimulări antigenice și corectînd răspunsurile imune (producere de aglutinine după administrare de vaccin antitific, numărare a limfocitelor în sîngele periferic, cercetare a anticorpilor antialbumină și antitoxoid difteric la iepuri etc.).

Deși nedorită, imunosupresia prin citostatice permite evaluarea eficacității drogurilor.

Față de multiplele efecte secundare ale medicamentelor imunosupresive sînt necesare măsuri de prevenire și tratament.

Prevenirea este asigurată folosind mai multe mijloace: se prelevează 300—400 ml măduvă osoasă înainte de chimioterapie și se reinjectează în caz de accidente; se administrează fitohemaglutinină; se fac spălături bucale cu nistatin pentru profilaxia micozelor etc. În caz de trombocitopenie se administrează acid ε-aminocaproic, iar în caz de leucopenie se fac transfuzii cu masă leucocitară sau măduvă autologă conservată și antibiotice.

BIBLIOGRAFIE

1. *Adams D. A. și colab.* — Azathioprine treatment of Immunological renal disease. *J. Amer. med. Ass.*, 1967, vol. 199, nr. 7, p. 459—463.
2. *Alexandre G. P. J., Murray J. E., Dammin G. J. și colab.* — Transplantation, 1963, 1, 432.
3. *Amiel J. L.* — Les immuno-dépresseurs chimiques en expérimentation et en clinique. *Presse méd.*, 1967, vol. 75, nr. 36, 1795—1796.
4. *Amiel J. L.* — Immuno-dépresseurs chimiques et transplantation d'organes. *Presse méd.*, 1967, vol. 75, nr. 36, p. 1801—1805.
5. *Amiel J. L., Dore J. F.* — Advance in transplantation. J. Duasset, J. Hamburger, G. Mathé ed. (Munksgaard, Copenhague), 1968, p. 163.
6. *Arnold G.* — La pharmacologie des médicaments immunosupressifs. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1969, vol. 854, p. 43.
7. *Arnold G.* — Aspect pharmacologique de la chimiothérapie des tumeurs solides. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1969, vol. 864, p. 364.
8. *Bach J. F., Dardenne M.* — Études sur le métabolisme de l'azathioprine. *C. R. Acad. Sci*, 1970, 271, 453.
9. *Bach J. F., Dardenne M.* — Études sur l'origine des cellules formant les rosettes spontanées. *C. R. Acad. Sci.*, 1971, 272, 1318.
10. *Bach J. F., Dardenne M., Fournier C.* — In vitro evaluation of immunosuppressive drugs. *Nature (Lond.)*, 1969, 222, 998.
11. *Bean R. H. D.* — Treatment of ulcerative colitis with antimetabolites. *Brit. Med. J.*, 1966, 1, 1081.
12. *Berceanu Șt., Gociu Mariana, Grozea P.* — Sistemul reticuloendotelial. Ed. medicală, București, 1967.
13. *Berenbaum M. C.* — Immunity, cancer and chemotherapy. (E. Mihich ed.). Academic Press, New York, 1967, p. 217.

Scanned with OKEN Scanner

14. *Berenbaum M. C.* — *Antibiot. et chemother.*, 1969, 15, 155.
15. *Bernard J.* — Les accidents seconds des chimiothérapies anticancéreuses. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1965, vol. 680, p. 291—292.
16. *Bernier J. J., Lambling A., Cornelis W.* — Sur la présence d'anticorps anti-côlon dans le serum des malades atteints de colite ulcéreuse. *Bull. Soc. méd. Hôp. Paris*, 1960, 76, 1129.
17. *Beumer H. N.* — Cyclophosphamid—Stosstherapie bei der Behandlung von malignen Lungentumoren. *Ned. Manndschr. Geneesk.*, 1965, vol. 109, p. 1 648—1 652.
18. *Boecke D. şi colab.* — Therapie fortgeschrittener Mammarkarzinome mit hochdosierten zytostatika. *Münch. med. Wschr.*, 1965, vol. 107, p. 2 114—2 118.
19. *Bowen G. E., Irons G. V. Jr., Rhodes J. B., Krisner J. B.* — Precautionary early experiences with immunosuppressive medication (Azathioprine) on ulcerative colitis. *Gastroenterology*, 1965, 48, 807.
20. *Boven G. E., Irons G. V., Rhodes J. B., Krisner J. B.* — *J. Am. Med. Ass.*, 1966, 195, p. 450.
21. *Brooke N. B., Hoffmann C. D., Swarbrick T. E.* — *Lancet*, 20 sept., 1969, II, nr. 7 621, p. 612—614.
22. *Calne R. Y. şi colab.* — Survival after Renal Transplantation in Man. *Brit. med. J.*, 1968, vol. 2, p. 404—406.
23. *Calne R. Y.* — *Transpl. Bull.*, 1961, 28, 445.
24. *Chalmers A. H., Knight P. R., Atkinson M. R.* — *Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1967, 45, 681.
25. *Champendal P.* — Traitement à la vincristine de la leucémie aiguë de l'enfant. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1969, vol. 861, p. 268.
26. *Chapuis Y.* — Transplantation hépatique chez l'homme, *Presse méd.*, 1969, vol. 77, nr. 6, p. 203—206.
27. *Chanmougan D., Schwartz R. S.* — *J. Exp. Med.*, 1966, 124, 363.
28. *Charache S. şi colab.* — Studies on the Folic Acid Vitamins. *Cancer*, 1960, vol. 13, p. 236—240.
29. *Ciorănescu E.* — Medicamente de sinteză. Ed. tehnică, Bucureşti, 1966.
30. *Clarkson B.* — Un traitement remarquable des leucémies aiguës: l'arabinosyl-cytosine. *Méd. et Hyg. (Genève)*, 1969, vol. 866, p. 425—426.
31. *Cocowen R., Bull F. E.* — Cirrhosis Associated with Methotrexate. Treatment of Psoriasis. *J. Amer. med. Ass.*, 1968, vol. 206, nr. 7, p. 1 515—1 520.
32. *Costăchel O., Csap C. F., Ionescu-Goga Silvia, Sterescu Mariana* — Cytostatic Disease in oncological clinic. *Arch. Geschwulstforsch*, 30 : 3, 210, 1967.
33. *Deodhar S. D. şi colab.* — Immunosuppression in Allogenic Murine Tuner System. *Lancet*, 1968, vol. I, nr. 7 535, p. 168—170.
34. *Doak P. B., Montgomerie J. Z., North J. D. K. şi colab.* — *Brit. Med. J.*, 1968, 1, 719.
35. *Dore J. F., Damian C., Amiel J. L.* — *Rev. Franç. Étud. Clin. biol.*, 1966, 11, 934.
36. *Dormont J.* — La chimiothérapie immunodépressive. *Cahiers médicaux Lyonnais*, tome 46, nr. 8, 27. II, 1970, p. 671.
37. *Eisenbeth R., Oberling Fr.* — Le traitement par les immunosupresseurs de certaines recto-colites hémorragiques et purulentes. Le rôle éventuel des lymphocytes. *Presse méd.*, 1969, 77, 56, p. 2 141.
38. *Elion G. B., Hitchings G. H., Vanderwerff H.* — *J. Biol. chem.*, 1951, 192, 505.
39. *Field E. J.* — Effect of Imuran on Susceptibility of Guinea Pigs to Allergic Encephalomyelitis. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1967, vol. 165, nr. 1, p. 138—141.
40. *Fine R. şi colab.* — Azathioprine and varicella. *J. Amer. med. Ass.*, 1969, vol. 207, nr. 1, p. 147—148.
41. *Floerscheim G. L.* — *Antibiot. Chemother. (Basel)*, 1969, 15, 407.
42. *Fries D.* — Nouvelles méthodes d'immunosupression en transplantation humaine. *Cah. méd. Lyon*, 1968, vol. 44, nr. 25, p. 2 569—2 578.
43. *Fries D. şi colab.* — Traitement des glomérulo-néphrites primitives prolifératives par l'azathioprine. *J. Urol. Néphrol.*, 1968, vol. 12, p. 878.

Scanned with OKEN Scanner

103. *Schaeporyver A.* — Chimiothérapie anti-tumorale. *Ars. med.*, 1967, vol. 22, nr. 2, p. 146—154.
104. *Schwartz R. S.* — *in:* Human transplantation — F. T. Rapaport et J. Dausset ed. (Grune et Stratton, New York), 1968, p. 440.
105. *Schwartz R. S., Dameshek W.* — *J. Clin. Invest.*, 1960, 39, 952.
106. *Seller M. J., Polani P. E.* — Transplantation of Allogeneic Haemopoietic Tissue in Adult Anaemic Mice of the W Series Using Antilymphocytic Serum. *Lancet*, 1969, nr. 7 584, p. 18—21.
107. *Shorter R. G., Spencer R. J., Huinzeuge K. A., Halenbeck G. A.* — Inhibition of *in vitro* cytotoxicity of lymphocytes from patients with ulcerative colitis and granulomatous colitis for allogenic colonic epithelial cells, using horse anti-human thymus serum. *Gastroenterology*, 1968, 54, 227.
108. *Soothil F. J., Barratt M. T.* — Le traitement immunosuppresseur de la glomérulonéphrite. Actualités néphrologiques de l'Hôpital Mecker, 1971, p. 83—89.
109. *Starzl J.* — *in:* Immunity Cancer and Chemotherapy (E. Mihich ed.), Academic Press, New York, 1967, p. 71.
110. *Starzl J.* — *Antibiot. Chemother.*, 1969, 15, 135.
111. *Stoebner R., Patterson M.* — Lymphocytic skin testing in ulcerative colitis and regional enteritis. *Clin. Res.*, 1965, 13, 32.
112. *Sunao Wada şi colab.* — Mustard Gas as a Cause of Respiratory neoplasma in Man. *Lancet*, 1968, vol. I, nr. 7 553, p. 1 161—1 163.
113. * * * — Symposium on immunosuppressive drugs. *Fed. Proceed*, 1967, 26, p. 879—958.
114. *Tardiff R. G., Dubois K. P.* — Inhibition of Hepatic Microsomial Enzymes by Alkylating Agents. *Arch. int. Pharmacodyn.*, 1969, vol. 177, nr. 2, p. 445—446.
115. *Ursea N.* — Glomerulonefritele. Colecţia „Cum tratăm", Ed. medicală, Bucureşti, 1968.
116. *Vicente J.* — Aspects actuels de la chimiothérapie du cancer. *Cahiers de Médecine (Europa Medica)*, 1971, 12 (3), 209—224.
117. *Watson D. W., Quingley A., Bolt R. J.* — Effect of lymphocytes from patients with ulcerative colitis on human adult colon epithelial cells. *Gastroenterology*, 1966, 51, 985.
118. *Werkheiser W. C.* — The Relation of Folic Acid Reductase to Aminopterin Toxicity. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1962, vol. 137, nr. 167—172.
119. *Woodruff M. F. şi colab.* — Renal Transplantation in Man. *Lancet*, 1969, nr. 7 584, p. 6—12.
120. *Zosin C.* — Terapia imunosupresivă în nefropatii. *Stud. şi cercet. de med. int.*, 1969, nr. 2, p. 137.
121. *Zosin C. şi colab.* — Tratamentul sindromului nefrotic cu ajutorul medicaţiei imunosupresive. *Med. internă* (Bucureşti), 1968, nr. 9, p. 1 067—1 074.
122. *Zosin C.* — Actualităţi în nefrologie. *Med. internă* (Bucureşti), 1968, nr. 12, p. 1 421.
123. *Zweibaum A., Halpern B., Veyre C., Oriol Palon R.* — Les antigènes tissulaires du tractus digestif chez l'homme et l'animal. Les antigènes du côlon. *Path. et Biol.*, 1967, 15, 359.

Scanned with OKEN Scanner

2

CORTICOTERAPIA

Cortizonul şi mai ales derivaţii săi reprezintă cea mai utilizată şi cea mai puternică medicaţie antialergică cunoscută, care nu lipseşte din nici o schemă terapeutică de imunosupresie, fie că este aplicată pentru a împiedica respingerea unui transplant, fie pentru tratarea unei boli „autoimune"*. De altfel, cortizonul şi adrenocorticotropul hipofizar au fost administrate pentru prima oară la om pentru a controla evoluţia unei boli cu componentă autoimună certă: poliartrita reumatoidă (50).

Corticoizii (glucocorticoizii şi derivaţii lor sintetici) s-au impus în clinică prin trei acţiuni terapeutice majore: efectul antialergic, antiinflamator şi efectul de substituţie în insuficienţele secretoare acute şi cronice ale corticosuprarenalei. Aceste acţiuni se întrepătrund. În orice reacţie alergică intervine şi inflamaţia, care pune uneori în pericol viaţa (de exemplu, şocul anafilactic).

Efectul favorabil al corticoterapiei se poate datori acţiunii antiinflamatoare chiar cînd o folosim cu intenţii imunosupresive. În boala Addison idiopatică (care reprezintă peste 50% din insuficienţele suprarenale cronice) (27), tratamentul substitutiv steroidal afectează probabil şi mecanismele autoimune care au determinat atrofia suprarenală.

Nu există o concepţie teoretică unitară privind folosirea corticoterapiei în clinică, deoarece pe de o parte mecanismul de acţiune al produselor respective e incomplet clarificat, iar pe de alta, natura multor boli care beneficiază de această terapie este obscură. La ora actuală, justificarea corticoterapiei în diferite stări clinice se bazează în primul rînd pe

* După Gell şi Coombs (40), termenul de boală autoalergică e mai corect, deoarece o autoimunitate presupune un subiect *protejat* împotriva propriilor celule sau constituenţi, pe cînd o autoalergie presupune un răspuns *alterat* al subiectului faţă de *self*-constituenţi.

Scanned with OKEN Scanner

observaţia empirică a atenuării simptomatologiei şi a ameliorării evoluţiei unor boli sub acţiunea corticoizilor.

Selye (1946) a emis ipoteza patogenică a unor „boli de adaptare", produse prin dereglarea balanţei secretoare suprarenale, cu producţia unui exces de mineralosteroizi faţă de glucocorticoizi, de unde rolul terapeutic al ultimilor. Descoperirea aldosteronului şi a efectelor sale, dozarea fracţionată cromatografică a corticoizilor şi folosirea hormonilor purificaţi în experimente au infirmat această concepţie patogenică.

Progresele imunobiologiei au scos la iveală bolile prin autoagresiune şi au reliefat rolul imunosupresiv al corticoterapiei. Acest efect se bazează mai mult pe distrugerea brutală, nespecifică, a ţesutului limfoid cu doze ridicate de steroizi decît pe restabilirea toleranţei specifice, dispărută în bolile autoalergice. La dozele de întreţinere folosite obişnuit în clinică, efectul antiinflamator pare să prevaleze asupra efectului imunosupresiv.

Deşi corticoterapia salvează uneori viaţa, iar adesea o prelungeşte, entuziasmul faţă de corticoizi nu trebuie să fie excesiv, deoarece prin natura acţiunii lor abolesc manifestările bolii, fără să antagonizeze direct agentul cauzal, cu excepţia dozelor total nefiziologice, maschează procesul patologic ca şi propriile lor efecte secundare nedorite şi suprimă secreţia internă a corticosuprarenalei.

FARMACOFIZIOLOGIE

Generalităţi. Dintre cei 50 de steroizi izolaţi din corticosuprarenală şi dintre cei 12 secretaţi în mod normal în sîngele venos suprarenal*, numai glucocorticoizii hidroxilaţi în poziţia 17 (cortizolul, cortizonul şi derivaţii lor sintetici) au acţiuni semnificative imunosupresive şi antiinflamatoare.

Mineralosteroizii, inclusiv acei derivaţi sintetici cu acţiune predominantă asupra electroliţilor (cel mai eficace fiind 2-metil, 9α-fluorohidrocortizonul), nu sînt utilizaţi în imunosupresie şi nu formează obiectul acestui studiu.

Adrenocorticotropul hipofizar natural, ca şi cel sintetic** (Synachten CIBA), acţionează prin intermediul secreţiei cortizolice endogene, dar determină în acelaşi timp secreţia estrogenilor şi androgenilor suprarenalei,

---

* În sîngele venos al suprarenalei umane au fost izolaţi (după A. P. Forsham, 1968): glucocorticoizi (cortizol, 15—30 mg secreţie/24 de ore; corticosteron, 2—5 mg secreţie/24 de ore); mineralocorticoizi (aldosteron, 11-dezoxicorticosteron), androgeni (dehidroepiandrosteron, Δ_4-androstendion, 11-β-hidroxiandrostendion), progestative (progesteron, pregnenolon, 17-hidroxipregnenolon), estrogeni (estradiol) şi testosteron.

** ACTH-ul uman e o proteină cu greutatea moleculară 23 000, cu structură încă incomplet identificată (65). În 1963 a putut fi sintetizat un adrenocorticotrop cu 39 de aminoacizi (104). ACTH-ul sintetic folosit în comerţ (Synachten CIBA) conţine primii 24 de aminoacizi ai adrenocorticotropului hipofizar, a căror secvenţă este comună pentru toate speciile. A fost obţinut de Schwyzer şi Kappeller tot în 1963 şi are o activitate biologică identică cu ACTH-ul cu 39 de aminoacizi, dacă e administrat intravenos. Intramuscular, se pierde o parte din activitate prin inactivarea enzimatică a polipeptidului.

Scanned with OKEN Scanner

care contracarează unele acțiuni catabolice ale cortizolului, fără a-i modifica efectele antialergice și antiinflamatoare. Stimularea suprarenală maximă e produsă de ACTH în doză de o unitate pe 24 de ore, nu crește cu doza și realizează o producție de cortizol de 10 mg pe oră (240 mg/zi), doze care corespund celor utilizate în clinică pentru întreținerea efectelor antialergice și antiinflamatoare (doze farmacofiziologice). Pentru imunosupresia propriu-zisă (terapia respingerii grefelor, terapia de atac în formele grave ale bolilor autoimune) sînt necesare cantități mult mai mari de corticoizi (doze farmacologice, de circa 1 000 mg cortizol pe zi sau cantități echivalente de produse sintetice), pe care nu le putem obține stimulînd cu ACTH producția endogenă suprarenală. Ca terapie de întreținere, ACTH-ul natural nu poate fi folosit din cauza reacțiilor de respingere pe care le generează. ACTH-ul sintetic (Synachten), deși medicament recent, s-a impus în clinica bolilor autoimune (100), fiind mai ușor de manipulat decît corticoizii (poate fi oprit oricînd, brusc), nu dă efecte secundare digestive și nu tulbură dezvoltarea copiilor chiar în cure prelungite (foarte indicat în sindromul Still) (38). Se recomandă la copii și tineri, dar are dezavantajul administrării parenterale (subcutanat), și al costului mai ridicat. În transplantele de organ nu e util, deoarece nu asigură dozele masive de cortizol necesare imunosupresiei.

STRUCTURA CHIMICĂ A CORTICOIZILOR UTILIZAȚI ÎN IMUNOSUPRESIE

În imunosupresie s-au impus derivații sintetici ai cortizolului, deoarece au efecte reduse asupra metabolismului hidro-electrolitic și sînt antiinflamatori foarte puternici (la om, efectul antiinflamator al unor preparate, de exemplu al fenilpirazoldexametazonului, depășește de 100 de ori pe al cortizolului). Efectul antiinflamator e considerat paralel cu efectul imunosupresiv. Nu există studii corelative precise.

Structura chimică a corticoizilor naturali și sintetici derivă din nucleul ciclopentanperhidrofenantrenic și derivatul său metilat steran.

Glucocorticoizii sînt compuși C_{21} cu oxigen în poziția 11 β. Pentru activitatea antiinflamatoare la om este obligatorie structura Δ-4-pregnen, 3-keto, 20-keto, 11-β, 17-α-21-trihidroxi-3,20-dion.

Această activitate e întărită de prezența unor componente structurale, și anume:

— dubla legătură la C_{1-2} (52);
— 6-α sau 9-α-halogenarea (37);
— 6-metilarea (115);
— 16-hidroxilarea (13);
— 16-α-metilarea (3);
— 16-β-metilarea (119).

Cortizonul a fost primul steroid suprarenal folosit în terapeutică. În 1949, Hench și colab. îl administrează într-o boală cu componentă autoimună certă: poliartrita reumatoidă.

Cortizolul (hidrocortizonul) (Δ-4-pregnen-3,20-dion-11-β, 17-α, 21-triol), principalul produs de secreție al corticosuprarenalei umane, este

Scanned with OKEN Scanner

farmacologic cu 25% mai activ decît cortizonul. Raportul cortizol/cortiosteron = 7 : 1; nivelul mediu plasmatic = 15 ± 0,4 µg/100 ml, cu ritm circadian (valori maxime la orele 6 a. m., minime la orele 10 p. m.), ceea ce corespunde cu o secreție medie, în 24 de ore, de 15—30 mg și o secreție maximă de 240 mg/24 de ore. Cortizolul a fost sintetizat, în 1950, de Wendler și colab. (130); el reprezintă punctul de plecare și etalonul tuturor derivaților sintetici. Nu e folosit ca mijloc imunosupresiv, deoarece, la dozele mari necesare, efectele secundare sînt grave și inevitabile.

Derivații sintetici ai cortizolului au o mult mai puternică acțiune antiinflamatoare și imunosupresivă (considerînd efectul antiinflamator al cortizolului egal cu 1, dexametazonul — cel mai puternic produs sintetic — are efectul egal cu 25). Dintre efectele secundare, sînt atenuate numai cele datorite dezechilibrului hidro-electrolitic.

Prednisolonul (Δ 1-cortizolul) și prednisonul (Δ 1-cortizonul) sînt produsele cele mai folosite pînă în prezent în schemele de terapie imunosupresivă. Au fost sintetizați de Herzog și colab. în 1955 (52). Au activitate antiinflamatoare de patru ori (respectiv de trei ori și jumătate) mai puternică decît cortizolul, datorită dublei legături de la C_{1-2}, pe care o păstrează toți ceilalți derivați sintetici. Prednisonul e activat în organism prin transformare în prednisolon.

Dintre ceilalți derivați sintetici cu activitate glucocorticoidă sînt utilizați în clinică: medrolul, triamcinolonul, parametazonul, betametazonul, dexametazonul, fluocinolonul. Fluocinolonul, ultimul corticoid sintetizat (79), e folosit numai în aplicații locale. Detalii asupra proprietăților chimice ale acestor produse există în numeroase tratate (21, p. 540—583). În tabelul XII sînt prezentate structura chimică și activitatea antiinflamatoare relativă a glucocorticoizilor sintetici.

În folosirea terapeutică a corticoizilor, inclusiv în imunosupresie, singurul criteriu al dozei adecvate este *răspunsul clinic*. Determinările specifice ale nivelului steroizilor în sînge sau alte țesuturi sau evaluarea reactivității corticosuprarenale sînt inutile, deși există date (122) care atestă un paralelism între capacitatea de inhibare a secreției endogene de ACTH, eozinopenie și efectele antiinflamatoare ale steroizilor.

CĂI DE ADMINISTRARE

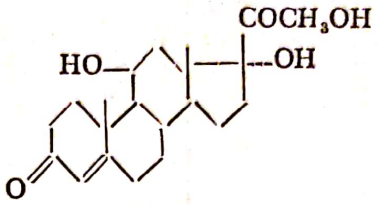
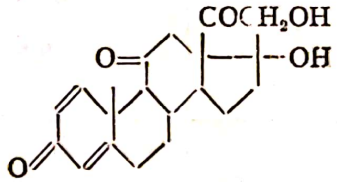
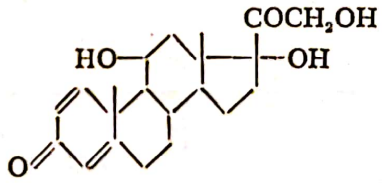
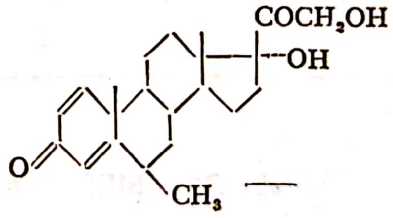
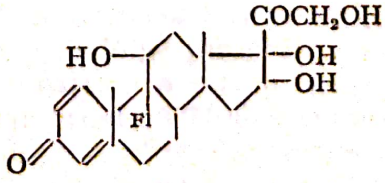
Pentru imunosupresie se folosesc de preferință derivații sintetici (mai ales prednisolonul, prednisonul, dexametazonul). Calea perorală e cea mai folosită, fiind posibilă administrarea parenterală a esterilor hidrosolubili (fosfat-succinat) cînd e necesar un nivel circulant înalt, în urgențe și la bolnavii incapabili să ingere medicamentele. Compușii 11-β-hidroxi pot fi injectați intraarticular. Fluocinolonul acetonid se aplică exclusiv local, topic.

Administrarea este zilnică; dozele de întreținere pot fi date intermitent (la două zile) fără să aibă loc o scădere a efectului (49) (vezi *Partea a treia*).

Scanned with OKEN Scanner

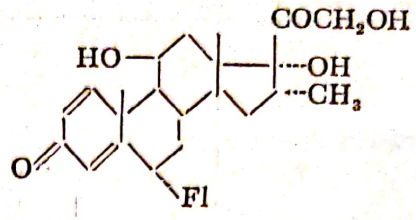
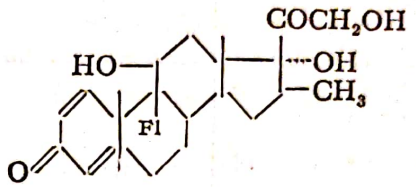
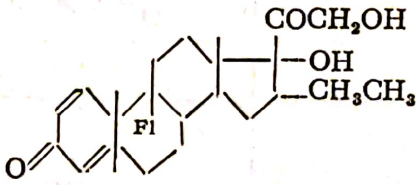
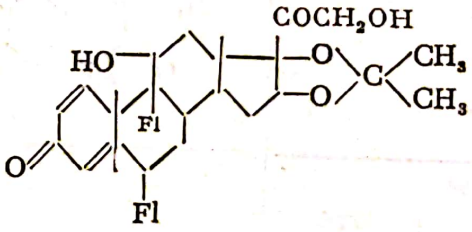
TABELUL XII

Structura chimică a corticoizilor utilizați în terapie

Nomenclatura uzuală și sinteza	*Nomenclatura chimică*	*Structura chimică*	*Activitate anti-inflamatoare la om*
Cortizol (sintetic: Wendler și colab., 1950)	Δ4-pregnen--3,20-dion, 11β, 17α, 21-triol		1
Prednison (Herzog și colab., 1955)	Δ1-cortizon		3,5
Prednisolon (Herzog și colab., 1955)	Δ1-cortizol		4
Medrol (Spero și colab., 1956)	6-metil-prednisolon		5
Triamcinolon (Bernstein și colab., 1956)	9-α-fluoro-16--α-hidroxi-prednisolon		5 (la animale= 10—40)

Scanned with OKEN Scanner

Continuare TABELUL XII

Nomenclatura uzuală și sinteza	*Nomenclatura chimică*	*Structura chimică*	*Activitate antiinflamatoare la om*
Parametazon (Edwards și colab., 1960)	6-α-fluoro-16-α--metilprednisolon		10
Betametazon (Taub și colab., 1958)	9-α-fluoro-16--β-metilprednisolon		25 (după Glyn, Fox, 1961, ar fi mai eficient decît dexametazonul în poliartrita cronică evolutivă)
Dexametazon (Arth și colab., 1958)	9-α-fluoro-16--α-metilprednisolon		25
Fluocinolon acetonid (Mills și colab., 1960)	6α, 9α-difluoro-16-α-hidroxiprednisolon-acetonid		

TRANSPORT, METABOLISM, ELIMINARE

Transportul plasmatic al cortizolului neconjugat are loc prin legare cu o α-globulină: transcortina (Slaunwhite, Sandberg, 1959) (sau CBG=corticosteroid-binding globulin, după Daughaday, 1958). CBG se saturează la o concentrație a cortizolului de 20 μg/100 ml. Mecanismul CBG asigură o sursă rapidă de hormon circulant și îl protejează de reducerea și conjugarea hepatică; în schimb lasă numai 10—15% din cortizol în formă liberă, activă metabolic și tisular. Steroizii sintetici sînt mult mai slab legați, concentrația compusului liber fiind deci mai mare. În

Scanned with OKEN Scanner

plus, la dozele mari, imunosupresive, capacitatea de saturație a CBG e mult depășită.

Catabolizarea cortizolului și a cortizonului, hormoni care pot trece unul într-altul prin acțiunea enzimelor la nivelul ficatului, are loc cu un timp de înjumătățire de 90 de minute și, respectiv, de 30 de minute. Locul primordial al catabolizării este ficatul, metabolizarea în alte țesuturi (fibroblaști, țesuturile limfoide maligne) fiind controversată. Etapele degradării sînt:

1) reducerea dublei legături C_4—C_5, cu formarea dihidroderivaților, reacție-cheie, *rate limiting*, afectată în leziuni hepatice;

2) reducerea grupării α_3-cetonice, cu formarea tetrahidroderivaților;

3) 90% conjugare cu acid glucuronic sau, în mai mică măsură, cu acid sulfuric și excreție în urină;

4) 10% degradare hepatică în 11-keto-etiocolanolon și 11 β-hidroxi-androsteron.

Catabolizarea derivaților sintetici folosiți în terapie urmează aceeași cale, însă dubla legătură C_1—C_2 (prednisonul, prednisolonul etc.) (123), ca și halogenarea în poziția 9 (dexametazon, betametazon, triamcinolon) prelungesc net timpul de înjumătățire (de la 90 de minute pentru cortizol la 200 de minute pentru dexametazon), încetinind reacțiile de reducere și inactivare biologică (vezi tabelul XIII, după Forsham, 1968, modificat).

TABELUL XIII

Timpul mediu de înjumătățire a unor corticosteroizi activi biologic (în minute)

Produsele naturale		*Derivați sintetici*	
Cortizon	30	60	Prednison
Corticosteron	70	—	—
Cortizol	90	200	Prednisolon
		200	Dexametazon

(după Forsham, modificat)

Excreția are loc renal și este diferită la cortizol și derivații sintetici activi biologic față de produsele de reducere și conjugare. Ultimele sînt foarte solubile în apă, și excretate după filtrare practic fără nici o reabsorbție tubulară.

În schimb, cortizolul liber, adică fracțiunea nelegată de CBG, reprezentînd 10% din cortizolul activ biologic, e reabsorbit tubular în proporție de 80—90%.

Derivații sintetici activi biologic sînt de asemenea supuși unei reabsorbții tubulare renale marcate.

În urina adultului se excretă (34): 5 mg tetrahidrocortizon; 3 mg cortol, cortolon; 3 mg tetrahidrocortizol; 1 mg 11-hidroxi-17-cetosteroizi.

În concluzie, eficiența biologică mai mare a steroizilor sintetici față de cei naturali și folosirea lor preferențială în clinică se datorește concentrației mai ridicate de substanță activă realizată de aceste produse-

Scanned with OKEN Scanner

(datorită legării mai slabe de proteinele plasmatice şi catabolizării mai lente), pe lîngă capacitatea lor intrinsecă antiinflamatoare şi imunosupresivă superioară.

EFECTELE BIOLOGICE ALE GLUCOCORTICOIZILOR

Numeroasele efecte fiziologice şi farmacologice ale corticoizilor sînt enumerate în excelente referate şi tratate recente (21; 34; 24). Nici unul din efectele fiziologice nu explică acţiunea terapeutică favorabilă; unele apar ca efecte secundare, nedorite, de mare importanţă clinică.

Ne vom limita la prezentarea acţiunii corticosteroizilor asupra reacţiilor imune şi inflamatoare. Rolul glucocorticoizilor în imunosupresie nu poate fi separat la ora actuală de acţiunea antiinflamatoare, întrucît în orice reacţie imună intervine un factor inflamator. Dozele de întreţinere folosite în tratamentul bolilor de autoagresiune au efecte reduse, nedecelabile asupra etapelor iniţiale ale procesului imun care precedă momentul efector, în schimb intervin în această fază finală „inflamatoare", atenuînd simptomatologia. După cum am arătat în paragrafele precedente, testarea activităţii biologice şi a eficienţei terapeutice relative a derivaţilor sintetici ai cortizolului se bazează pe activitatea lor antiinflamatoare. Nu sînt utilizate încă teste de imunosupresie.

Mecanismul intim de acţiune al glucocorticoizilor, la nivel molecular, celular, nu e cunoscut (21; 11; 24). Efectul lor nu se exercită asupra unei singure enzime şi nu poate fi limitat la o singură etapă a proceselor complexe reprezentate de imunitate şi inflamaţie. Diferenţele de specie, diferenţele dintre datele obţinute *in vivo* şi *in vitro* fac dificilă interpretarea rezultatelor experimentale. Pe de altă parte, nici procesul imunităţii, nici cel al inflamaţiei, pe care dorim să le influenţăm, nu sînt complet clarificate.

În concluzie, nu cunoaştem căile prin care se realizează imunosupresia, deşi sînt bănuite mai multe mecanisme, fiind descrise efectele finale ale corticoizilor asupra proceselor imune.

A. ACTIVITATEA IMUNOSUPRESIVĂ

Glucocorticoizii inhibă răspunsul imun primar şi în mai mică măsură răspunsul imun secundar (75). La om, dozele curente de întreţinere nu au efecte decelabile în ce priveşte procesele imune (41), acestea fiind influenţate de dozele mari de atac, de circa 1 000 mg cortizon pe zi sau de dozele echivalente ale derivaţilor sintetici (34).

La nivel molecular şi celular, glucocorticoizii interferează în unele ţesuturi sinteza acidului ribonucleic mesager şi posibil a acidului dezoxiribonucleic (Dougherty, White, 1945, citat de 117) şi distrug limfocitele. În mare măsură, mecanismele imune efectoare sînt inhibate de glucocorticoizi prin activitatea lor antiinflamatoare.

Scanned with OKEN Scanner

Corticoterapia şi limfocitele

La om, glucocorticoterapia prelungită provoacă atrofia ţesutului limfoid, inclusiv a celui din splină şi timus (70). Selye (106) a prevăzut acest lucru experimental încă din 1936. Există însă diferenţe de specie: omul, maimuţa şi cobaiul sînt mai puţin susceptibili la efectele limfolitice.

Limfocitopenia apare precoce, pronunţată, prin scăderea producţiei de limfocite şi creşterea distrugerii lor (22). În culturi de ţesuturi, multiplicarea limfocitelor extrase de la bolnavii aflaţi sub corticoterapie e blocată, ca şi diviziunea limfocitelor recoltate de la normali, la care se adaugă *in vitro* corticoizi. Limfocitele acumulate în aria inflamaţiei la subiecţii trataţi cu corticoizi sînt în număr mult mai mic decît la cei netrataţi (Cumming şi colab., 1952; Rebuck şi colab., 1953) (citaţi de 21).

Aceste efecte se explică prin acţiunea anticitopatogenă a glucocorticoizilor asupra limfocitelor (92), reducerea aportului de aminoacizi şi a încorporării lor în proteine, scăderea acidului ribonucleic, a acidului dezoxiribonucleic şi a acidului ribonucleic-polimerazei (vezi mai departe).

Ţesutul limfoid care supravieţuieşte are o activitate normală: fagocitează normal (75) şi produc anticorpi (48).

Întrucît prednisonul, ca şi serul antilimfocitar, modifică semnificativ densitatea încărcării electrice a limfocitelor periferice umane, se crede că modifică şi proprietăţile biologice ale membranei celulare (14).

Rezultă o scădere a fondului de celule imunocompetente, ducînd la instalarea unei stări de toleranţă nespecifică la „doză înaltă" de tip Mitchinson, deşi cantitatea de antigen nu este încă foarte mare; însă cantitatea relativă de antigen, ţinînd seama de împuţinarea limfocitelor, e suficientă pentru a induce starea de non-reactivitate (103). Acesta este considerat actualmente principalul mecanism al efectelor imunosupresive ale corticoterapiei.

Efectul corticoterapiei asupra sintezei acidului ribonucleic celular

Transferul informaţiei antigenice de la macrofag la limfocitul mic se realizează prin intermediul acidului ribonucleic mesager liber şi a acidului ribonucleic legat de imunogen (vezi *Partea întîi*).

Cercetări recente sugerează că glucocorticoizii intervin în metabolismul proteic reglînd sinteza acidului ribonucleic mesager, probabil incriminînd un sistem de gene operator-represor (24).

Răspunsul enzimatic la glucocorticoizi variază mult cu ţesutul şi organul. De exemplu, în ţesutul limfoid şi timic (59) scad acidul ribonucleic, acidul dezoxiribonucleic (70), acid ribonucleic-polimeraza (30) şi încorporarea P^{32} în acizii nucleici (30), pe cînd în ficat e stimulată biosinteza enzimelor proteice (127), mai ales transaminaze (94; 126), sinteza acidului ribonucleic mesager şi acidului ribonucleic microzomal (94), efecte blocate de actinomicină şi puromicină.

De aceea e greu să se tragă concluzii, deocamdată, asupra legăturii dintre efectul imunosupresiv al corticoterapiei şi influenţarea sintezei acizilor nucleici.

Scanned with OKEN Scanner

I. DEPRESIA FENOMENELOR IMUNOLOGICE MEDIATE DE ANTICORPI

Antigenul pătruns în organism nu e influențat de corticoterapie. Captarea antigenului de către macrofage, îndepărtarea lui din circulație, distrugerea lui au loc în aceeași cantitate și cu aceeași viteză, atît la animale tratate cu cortizon, cît și la martori (23).

Inhibarea răspunsului imun primar și în mai mică măsură a răspunsului imun secundar de către glucocorticoizi în doze foarte mari a fost clar demonstrată la iepuri, șobolani, șoareci (24), dar nu există alterări semnificative ale ratei degradării anticorpilor preformați sau ale titrului anticorpilor circulanți (31). La om, depresia sintezei anticorpilor nu apare la dozele obișnuite de circa 100—200 mg cortizol sau echivalenți pe zi, așa cum dovedesc studiile experimentale pe voluntari inoculați cu antigene pneumococice (80), vaccin antipertussis, gripă, toxoid difteric, toxine stafilococice, vaccin antitific etc. Producția anticorpilor scade însă la dozele imunosupresive (circa 1 000 mg cortizol sau echivalenți pe zi) (34).

Momentul administrării este foarte important. Timpii optimi pentru blocarea sintezei anticorpilor de către cortizon variază cu natura antigenului. De exemplu, în dezvoltarea experimentală a hemolizinelor la șobolan, inhibiția maximă apare în caz de administrare a cortizonului cu două zile înainte și în ziua injectării antigenului. Nerespectarea acestor condiții (administrare precoce sau după antigen) scade sau face să dispară efectul. Corticoizii acționează deci în perioada inductivă a răspunsului imun primar, după unii autori pe o perioadă scurtă, de maximum o zi (12). De aceea, cînd se poate face profilaxia unei reacții imunologice, cum e cazul transplantelor de organ, corticoterapia va începe cu cîteva ore pînă la 24 de ore înainte de operație (Woodruff, 1967) (vezi *Partea a treia, capitolul 4*).

Corticoterapia are efect mai redus și asupra răspunsului imun secundar. Glucocorticoizii nu intervin numai în limitarea proceselor imune, ci și în producția continuă de anticorpi (47).

Imunodepresia eficientă realizată în crizele de respingere a grefei, ca și în bolile de autoagresiune, beneficiază de această acțiune. Profilaxia răspunsului primar în bolile autoimune este exclusă.

II. DEPRESIA FENOMENELOR IMUNOLOGICE MEDIATE DE CELULE

Efectul glucocorticoizilor asupra fenomenelor imunologice celulare rezultă din acțiunea lor asupra limfocitelor (agentul reacțiilor imunologice celulare) și asupra reacțiilor inflamatoare care însoțesc aceste fenomene.

La dozele medii obișnuite, corticoizii și ACTH-ul nu inhibă inducerea sensibilizării de contact, iar limfocitele sensibilizate de la subiecți sub corticoterapie transferă reactivitatea la receptori normali (105). Aceste doze inhibă reacțiile de hipersensibilitate întîrziată (98), suprimînd exclusiv expresia lor inflamatoare periferică.

Doze enorme, de imunosupresie, pot preveni sensibilizarea limfocitelor (125), scad pătrunderea celulelor sensibilizate în organele transplantate sau în ariile în care antigenele au fost depozitate și prelungesc viața homografelor. De aceea se administrează de rutină în transplantele de organe.

Scanned with OKEN Scanner

Corticoizii nu împiedică cuplarea antigen-anticorp, antigen-limfocit sensibilizat, nici formarea complexelor antigen-anticorp și nu au nici un efect asupra complementului.

În schimb, împiedică eliberarea mediatorilor chimici, declanșată de reacțiile imune; inhibă migrarea leucocitelor, macrofagelor și limfocitelor spre locul reacției imune; împiedică distrugerea lizozomilor cu eliberarea enzimelor proteolitice intracelulare; suprimă efectele vasculare și de permeabilizare a membranelor, realizate de mediatorii chimici.

În concluzie, glucocorticoizii suprimă mecanismele imune efectoare periferice, prin acțiunea lor „antiinflamatoare". Acest efect este evident și la dozele de întreținere folosite curent în clinică și considerate ca lipsite de efect imunosupresor. Toate cele patru mecanisme efectoare imune (20) sînt astfel inhibate: tipul I — anafilaxia, tipul al II-lea — citoliza, tipul al III-lea — complexele solubile antigen-anticorp și tipul al IV-lea — hipersensibilitatea întîrziată. Aceste mecanisme reprezintă calea finală pentru lezarea celulară și tisulară, după ce anticorpii, complexele imune sau celulele sensibilizate și-au îndeplinit rolul imunologic.

Influența glucocorticoizilor asupra mecanismelor efectoare imune de tipul I (tipul anafilactic: de exemplu, urticaria, febra fînului, astmul bronșic, șocul anafilactic). După cum s-a arătat anterior *(Partea întîi)*, reacția anticorpilor reaginici, de obicei imunoglobuline *E*, cu mastocitele, leucocitele bazofile, neutrofilele și poate și cu alte celule determină ieșirea granulelor citoplasmatice care eliberează substanțe farmacologic active de tipul histaminei, bradikininei, serotoninei (din mastocit, din leucocitul bazofil), substanței lent reactive (din polimorfonucleare).

a) Mastocitele și bazofilele. Corticoterapia micșorează volumul mastocitelor; granulele lor formează agregate neregulate. Numărul bazofilelor circulante se micșorează, ca și al eozinofilelor, și o dată cu ele scade nivelul histaminei serice (84). Deși prednisonul administrat în doze adecvate are un efect imediat de blocare a eliberării granulelor bazofile, indusă de reacția antigen-anticorp la iepure (108), glucocorticoizii nu inhibă eliberarea histaminei din leucocitele bolnavilor sensibilizați după expunerea la antigen (84).

b) Polimorfonuclearele neutrofile. Sub corticoterapie se observă frecvent o leucocitoză cu neutrofilie și parțial monocitoză prin aflux crescut din măduva osoasă și prin inhibarea migrării leucocitelor din sîngele circulant (Bishop și colab., 1968). Glucocorticoizii inhibă migrarea neutrofilelor, fără să modifice activitatea lor fagocitară privind distrugerea intracelulară a bacteriilor (39; 41). Scade fixarea leucocitelor de endoteliu (marginație leucocitară) (1). Mobilizarea leucocitară e blocată datorită efectelor exercitate de corticoizi asupra calibrului și permeabilității vasculare.

c) Histamina. În procesele alergice tratate cu glucocorticoizi, nivelul histaminei serice e scăzut, constatîndu-se totodată scăderea bazofilelor, a eozinofilelor și alterarea mastocitelor. Eliberarea histaminei din

Scanned with OKEN Scanner

celule nu e modificată, fiind inhibată în schimb reacumularea histaminei în țesuturi după descărcare (45; 101).

Corticoizii nu au efecte antihistaminice pe receptorii tisulari. Glucocorticoterapia sistematică nu blochează semnificativ reacțiile provocate de testele alergice cutanate la pacienți atopici (71), deși reacțiile alergice generalizate sînt blocate, ca și reacțiile de tip boala serului.

d) Sistemul calicreină-kinin-kinază pare să fie un important loc de acțiune al glucocorticoizilor. La concentrații de 10^{-6}—10^{-5} M, glucocorticoizii previn parțial sau total eliberarea kininelor de pe substrat, fie în sistemul calicreinic plasmatic, fie în cel granulocitar (18; 118). Nu se știe dacă acest efect e mediat de interacțiunea cu substratul sau cu sistemul de activare a calicreinei.

e) Corticoterapia și reacțiile vasculare. Efectul tisular al mediatorilor chimici eliberați de reacția antigen-anticorp constă în reacții vasculare, reacții ale musculaturii netede și reacții celulare. Permeabilitatea vasculară crește, se constată o vasodilatație cu extravazare plasmatică, marginație și diapedeză leucocitară, migrația leucocitelor și histiocitelor spre centrul focarului inflamator, unde au loc procese de distrucție tisulară, de curățare și de proliferare vasculo-conjunctivă.

Glucocorticoizii acționează direct la nivelul capilarelor (5) și al vaselor mici, suprimă vasodilatația, ameliorează menținerea tonusului vascular și a vasoconstricției (1). Permeabilitatea vasculară scade prin vasoconstricție sau prevenind acțiunea unor substanțe chimice, cum ar fi hialuronidaza (8), stabilizînd membrana bazală extracelulară și cimentul intercelular al capilarelor și venulelor (135).

După Germuth (1956), puternica acțiune a corticoizilor asupra răspunsurilor vasculare și acțiunea mai slabă asupra musculaturii netede explică blocarea șocului anafilactic la șoarece (Nelson și colab., 1950) (citat de 21), la care componenta vasculară este majoră, și lipsa acestui efect la cobai (Harris și colab., 1950) (citat de 21), la care domină bronhospasmul. Germuth (1956) presupune că acțiunile vascular-antiinflamatoare ale corticoterapiei explică în primul rînd inhibarea urmărilor determinate de reacțiile antigen-anticorp la om.

f) Reacții alergice la administrarea ACTH-ului sau a corticoizilor. Reacțiile alergice sînt frecvente în cursul corticoterapiei, mai ales cu ACTH. Landon (1967) găsește anticorpi anti-ACTH la 13 din 19 copii tratați cu ACTH porcin. Acești anticorpi inactivează printr-o reacție încrucișată și ACTH-ul endogen, fără să tulbure însă net relațiile hipofiză-corticosuprarenală. Acest lot de bolnavi nu a manifestat clinic reacții alergice. În schimb, pînă în 1964, Rosenblum (95) citează 65 de reacții anafilactice, dintre care două decese. Preparatele naturale, chiar foarte purificate, inclusiv cele de ACTH uman, continuă să dea reacții alergice și teste cutanate pozitive. Pe de altă parte, după ACTH-ul sintetic nu apar reacții cutanate pozitive (62).

Rolul impurităților a fost evidențiat și în reacțiile alergice din cursul terapiei cu glucocorticoizi administrați oral sau local, intraarticular. Lockey (1959) și Chafee (1967) explică trei cazuri de urticarie și un caz de

Scanned with OKEN Scanner

astm sever, secundare administrării dexametazonului (decadron^R, deronil^R) și prednisonului (paracortol^R), prin folosirea tartrazinei, o pulbere de alanină, ca agent colorant al acestor preparate. Studiul reacțiilor alergice provocate de pulberile vegetale *F*, *D* și *C* din produsele comerciale (68) e îngreunat de faptul că nu li se cunoaște natura chimică (aceasta fiind un secret de fabricație). Schorr (1968) obține dermatite de contact cu *paraben*, un adjuvant din cremele cu cortizon, ceea ce ar explica și urticaria după betametazon, observată de Madden (69).

În concluzie, numeroase date susțin că reacțiile alergice din cursul corticoterapiei nu ar fi provocate de steroizi, ci de impuritățile administrate o dată cu hormonii.

Corticoterapia și reacțiile efectoare imune de tipul al II-lea (citoliză, de exemplu în unele anemii hemolitice, trombocitopenii etc.). În aceste reacții se știe că anticorpii și complementul (de care nu e nevoie în toate cazurile) nu distrug propriu-zis celulele, ci, reacționînd cu componentele antigenice ale membranei celulare, măresc susceptibilitatea celulei de a fi atacată de macrofage și stimulează eliberarea enzimelor lizozomice proteolitice.

Corticoterapia intervine în mai multe feluri:

a) inhibă îndepărtarea eritrocitelor circulante pe care s-au fixat anticorpii (57);

b) inhibă migrația macrofagelor și a polinuclearelor, fără să le modifice capacitatea fagocitară (39). Efectul se explică prin reducerea permeabilității capilare, deoarece mobilitatea macrofagelor în culturi de țesuturi rămîne nemodificată;

c) stabilizează membrana lizozomală.

In vitro, glucocorticoizii inhibă eliberarea hidrolazelor acide din granulele leucocitare (128), previn eliberarea proteinelor cationice și a catepsinei *D* și *E* (44).

Corticoterapia și reacțiile imune efectoare de tipul al III-lea (complexele solubile antigen-anticorp, de exemplu fenomenul Arthus, boala serului, glomerulonefritele acute și cronice, lupusul eritematos diseminat, febra cvartă etc.). Corticoizii blochează aceste reacții, acționînd în numeroase feluri:

a) nu influențează formarea complexelor solubile antigen-anticorp și nu au nici o influență asupra complementului (24), element esențial în reacția efectoare de acest tip*;

b) inhibă migrarea complexelor imune prin peretele vascular (42) și depozitarea lor în organele susceptibile;

c) blochează migrarea neutrofilelor, elementele dominante în acest tip de reacție, inhibă eliberarea enzimelor proteolitice lizozomale (vezi mai sus) și efectele substanțelor pirogene și ale hormonilor proinflamatori, stimulate de aceste reacții (20).

Corticoterapia și reacțiile efectoare de tipul al IV-lea (hipersensibilitatea întîrziată, de exemplu dermatita de contact,

* Actualmente sînt cunoscute și substanțe care blochează activitatea complementului; de exemplu, o glicoproteină din veninul de cobra elimină a treia componentă a complementului (C'_3) *in vitro* și *in vivo*, în prezența unei proteine serice din fracțiunea β-globulinică (Müller, 1968) (citat de 103).

Scanned with OKEN Scanner

în mare parte respingerea homografelor etc.). În doze uzuale (circa 20—30 mg prednison/24 de ore), corticoterapia reduce reacţiile tuberculinice (98). Celulele obţinute de la animale sensibilizate, tratate cu glucocorticoizi, transferă reactivitatea la receptori (105), deci numai reacţia efectoare periferică e inhibată, inducerea sensibilizării de contact rămînînd neatenuată (vezi efectul glucocorticoizilor asupra limfocitelor).

Nu se ştie precis dacă glucocorticoizii interferează cu eliberarea mediatorilor chimici, consecutivi reacţiei antigen-limfocit sensibilizat, respectiv „factorul de permeabilitate ganglionar" (Schild, Willoughby) (citat de 20) sau „factorul de inhibare a macrofagelor" (103), însă în orice caz blochează reacţiile vasculare, migrarea mononuclearelor, proliferarea histiocitară, adică efectul mediatorilor asupra ţesuturilor.

În doze mari, după cum am arătat, corticoizii interferează însăşi sensibilizarea limfocitelor imunocompetente.

B. ACŢIUNILE ANTIINFLAMATOARE ALE GLUCOCORTICOIZILOR

Blocarea reacţiilor vasculare, scăderea permeabilităţii vaselor, împiedicarea migrării polimorfonuclearelor şi a macrofagelor, stabilizarea membranelor lizozomale, inhibarea eliberării calicrein-kinin-kinazelor sînt considerate efecte „antiinflamatoare" ale glucocorticoizilor. Intervenţia factorului „inflamator" în manifestările proceselor imunologice ne-a obligat să prezentăm aceste efecte în paragraful precedent. Vom adăuga cîteva date asupra influenţei exercitate de corticoterapie asupra sistemului reticulo-histiocitar, ţesutului conjunctiv, interferonului şi substanţelor pirogene.

Corticoterapia şi sistemul reticulo-histiocitar. Studiile efectelor exercitate de glucocorticoizi asupra sistemului reticulo-histiocitar au căutat să explice susceptibilitatea bolnavilor aflaţi sub corticoterapie la dezvoltarea septicemiilor.

Majoritatea cercetătorilor susţin că îndepărtarea bacteriilor şi a particulelor coloidale din circulaţie nu e încetinită de steroizi (24). Revenirea bacteriilor în sînge, unde se vor dezvolta ca într-un mediu de cultură (21), ţine probabil de scăderea imunodepresiei realizate de glucocorticoizi.

Corticoterapia şi ţesutul conjunctiv. Vindecarea plăgilor chirurgicale, ca şi dezvoltarea ţesutului de granulaţie, sînt inhibate de glucocorticoizi, atît la om, cît şi la animale, dacă se administrează cantităţi mari în primele două-trei zile ale leziunii. La om, dozele obişnuite de întreţinere rămîn fără efect (88), în schimb dozele de imunosupresie împiedică cicatrizarea (90), ceea ce îngreunează tratamentul în unele boli care necesită intervenţii chirurgicale (de exemplu, colitele ulceroase) (90).

Aceste efecte se datoresc acţiunii exercitate de corticoizi asupra substanţei fundamentale, a fibrilelor de colagen şi asupra dezvoltării vaselor.

Inhibarea activităţii fibroblastice nu a fost dovedită (4), fiind sigură scăderea producţiei de colagen şi de substanţă intercelulară. Scad procolagenul tisular, încorporarea aminoacizilor în colagen, fără să intensifice degradarea colagenului (89), căci excreţia urinară de hidroxiprolină nu

Scanned with OKEN Scanner

crește sub corticoterapie (10) sau în boala Cushing (60) și chiar scade la copii (73). Puncții bioptice cutanate la oameni tratați cu 350 mg prednison pe zi, timp de două săptămîni, arată descreșterea conținutului în hexozamină, component esențial al mucopolizaharidelor (234), descreșterea sintezei de acid condroitinsulfuric (4), descreșterea încorporării tisulare a UDP-N-acetilglucozaminei și a UDP-N-acetilgalactozaminei, nucleotide necesare biosintezei mucopolizaharurilor.

După Ehrlich și colab. (1968), efectul negativ al cortizonului asupra cicatrizării plăgilor poate fi mediat prin lizozomi și prevenit parțial cu ajutorul vitaminei A. Cortizonul stabilizează membrana lizozomală, inhibă eliberarea *in vitro* a hidrolazelor acide (128), a proteinelor cationice, a catepsinei *D* și *E* (44).

S-a propus ca efectul anticolagenic al corticoizilor, prin aplicare topică de fluocinolon acetonic, să fie folosit pentru a preveni formarea cicatricelor mari, vicioase (Berliner și colab., 1967).

Interferonul. După administrarea glucocorticoizilor, unii autori au constatat scăderea nivelului seric al interferonului, *in vivo,* la șoarece, după infecții virale acute, și scăderea producției interferonului *in vitro,* în culturi de celule splenice și fibroblastice (97). Astfel s-ar explica susceptibilitatea crescută la infecții virale.

Alte lucrări nu susțin acest punct de vedere (77).

Efectul antipiretic. Pe animale, glucocorticoizii au un efect direct pe centrii termoreglatori hipotalamici, scăzînd răspunsul termic după o injecție cu piromen (17).

În concluzie, prin efectele ei imunologice și antiinflamatoare, corticoterapia împiedică formarea anticorpilor, scade numărul celulelor imunocompetente, inhibă reacțiile efectoare imune, favorizînd instalarea toleranței nespecifice față de orice *non-self* (organ transplantat sau organ lezat într-o boală de autoagresiune).

Prin aceleași mecanisme, corticoterapia scade puterea de apărare a organismului împotriva infecțiilor bacteriene virale, fungice, parazitare. În plus, unii autori discută interferarea acțiunii antibioticelor de către corticoterapie (58).

Ca urmare, în doze adecvate, corticoterapia este principalul medicament imunosupresiv în reacțiile imunologice intense, acute (crizele de respingere a grefei, fazele acute ale bolilor autoimune), iar complicațiile infecțioase consecutive sînt principalul pericol al acestui tratament și cauza cea mai frecventă a morții*.

Celelalte efecte fiziologice și farmacologice ale glucocorticoizilor interesează clinica în momentul în care devin complicații ale corticoterapiei (vezi complicațiile).

---

* Deși în general scade rezistența la infecții a indivizilor supuși corticoterapiei, iar asocierea steroizilor cu antibioterapia în infecțiile acute e mai degrabă dăunătoare decît avantajoasă, unele date modifică oarecum acest punct de vedere. Gepper (1963) arată că susceptibilitatea la infecții depinde foarte mult de natura bolii tratate cu corticoizi.

Acest fenomen poate fi explicat prin datele actuale asupra reacțiilor alergice ca factor în patogenitatea microbiană (40), care depinde fie de toxine, agresine, factori virulenți, împotriva cărora mecanismele imunologice ale organismului luptă

Scanned with OKEN Scanner

INDICAȚIILE CORTICOTERAPIEI

Corticoterapia e utilizată în clinică în primul rînd pe baza observațiilor empirice care demonstrează atenuarea a numeroase boli sub tratamentul respectiv. Datele actuale asupra mecanismului de acțiune al steroizilor nu au permis depășirea acestui stadiu. După cum am menționat, deși corticoterapia e utilizată cu succes în toate bolile presupus autoimune, acțiunea imunosupresivă a steroizilor în dozele de întreținere folosite nu a fost dovedită. Dozele mari utilizate pentru a preveni respingerea transplantelor urmăresc reducerea răspunsului imun prin lezarea întregului sistem limforeticular, în schimb aceleași doze sînt folosite în tratamentul de atac al unor boli cu componentă alergică sau autoalergică, în primul rînd pentru a reduce efectele acute inflamatoare, care pun adesea viața în pericol.

De aceea nu putem enumera indicațiile corticoizilor ca terapie imunosupresivă și nici chiar antialergică, pe baza unei clasificări fiziopatologice, aceasta nefiind clarificată. De exemplu, nu se știe dacă utilizarea obligatorie a cortizonului — în doze de substituție, minime, de 15—30 mg/24 de ore, în boala Addison prin atrofie idiopatică suprarenală — influențează sau nu mecanismele patogene autoimune care determină boala. Invers, efectul pozitiv al corticoterapiei în unele boli cu etio-patogenie incomplet clarificată pune și problema existenței unor mecanisme alergice, autoimune, pe lîngă cele inflamatoare. În orice caz, douăzeci de ani de experiență clinică permit actualmente o schițare a cadrului în care e utilă corticoterapia, deși nu există o listă de indicații rigide. Redăm aceste indicații după Forsham (1968), în tabelul XIV, pentru a reveni — în capitolul utilizării clinice a terapiei imunosupresive — cu amănunte asupra schemelor terapeutice în boli cu componentă autoimună precizată, deoarece criteriile utilizării steroizilor variază de la boală la boală, iar contraindicațiile au pondere diferită, în funcție de natura, stadiul evolutiv și prognosticul bolii în cauză. Dozele trebuie de asemenea adaptate individual, fiind greșită adoptarea oarbă a unei scheme de rutină.

Cele două mari grupe de indicații ale corticoizilor ca terapie imunosupresivă sînt bolile autoimune și prevenirea respingerii organelor transplantate; pe lîngă acestea, există o serie de indicații pur antiinflamatoare, ca adjuvant al diureticelor, ca euforizant etc., care nu se referă la subiectul discutat.

încercînd să instaleze o stare de imunitate, fie prin produse antigenice, altfel netoxice, care provoacă reacții imunologice nocive, deoarece pot leza țesuturile prin unul din cele patru mecanisme efectoare cunoscute. De exemplu, în tuberculoză, bacilul Koch nu posedă un principiu toxic cunoscut. Astfel de microorganisme pot fi nepatogene la un animal care nu manifestă reacții alergice la un agent microbian particular sau nu e capabil să le aibă (de exemplu, oameni toleranți sau oameni cu o capacitate de răspuns imunologic scăzută prin corticoterapie, radiații ionizante etc.), în schimb sînt patogene la orice gazdă sensibilizată. Prin acest mecanism al reacțiilor imunologice patogene, Gell și Coombs (1968) explică efectele ascaridiozei intestinale la om, ale pneumoniei lobare, encefalitei, tripanosomiazei.

Inducînd o toleranță nespecifică, corticoterapia scade desigur reacțiile imune și poate avea efecte favorabile în toate aceste cazuri.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XIV

Indicațiile clinice generale ale corticoizilor

(după Forsham, 1968) (modificat)

1. *Doze mari* (echivalentul a 1 000 mg cortizol/zi)

a) sub o săptămînă	boala serului acută (de exemplu, reacție la penicilină) pneumonie de aspirație arsuri esofagiene glaucom secundar acut colaps vascular acut care nu răspunde la agenți presori
b) pentru perioade mai lungi	transplante de organe, procedură standard pentru primele săptămîni și în caz de tendință la respingere puseuri evolutive de lupus eritematos diseminat, cu lezare renală rapidă nefroze care nu răspund la terapia intermitentă purpură trombocitopenică trombotică, pemfigus, reumatism poliarticular acut, la începutul evoluției, în puseu acut fibroză pulmonară cronică, care nu mai răspunde la doze moderate sindrom Waterhouse-Friderichsen, leucemie acută

2. *Doze moderate, de întreținere* (echivalentul a 30—60 mg cortizol/zi) sau intermitent (Harter, 1963) (150 mg cortizol la 2 zile)

Boli alergice	astm bronșic febră de fîn, severă rinită alergică edem angioneurotic
Dermatoze	dermatită atopică neurodermatite eczeme alergice
Colagenoze	lupus eritematos diseminat dermatomiozită poliartrită reumatoidă și sclerodermie (numai excepțional și în doze mici) eritem nodos paniculită nesupurativă
Discrazii sanguine	purpură trombocitopenică idiopatică anemie hemolitică dobîndită purpură alergică
Boli digestive	ileite colită ulceroasă hepatită lupoidă atrofie galbenă acută hepatică
Boli infecțioase (în prezența antibioticelor de elecție, în cazuri individualizate)	tuberculoză pulmonară, uro-genitală, osoasă meningită tuberculoasă

Scanned with OKEN Scanner

Continuare TABELUL XIV

Diverse
- paralizie Bell
- polipi nazali
- sarcoidoză
- nefroză
- emfizem pulmonar
- artrită gutoasă acută (la bolnavi sensibilizaţi la colchicină)
- cazuri terminale de leucemie, boala Hodgkin, carcinom
- adjuvant al terapiei diuretice în ascite, insuficienţe cardiace ireductibile

3. Dozele de inhibare a activităţii steroidale endogene
— dexametazonul este de preferat, ultima doză cît mai aproape de miezul nopţii
- sindrom adrenogenital
- sindrom Stein-Löventhal
- hirsutisme mixte suprareno-ovariene

4. Terapia de substituţie
— echivalentul a 15—30 mg cortizol/zi, eventual în priză unică, între 8 a.m. şi 9 a.m.
- insuficienţă corticosuprarenală cronică primară (tuberculoasă, autoimună, micotică etc.) sau secundară

5. Aplicaţii topice (de preferat triamcinolonul)
(dacă rămîne ineficient 7 zile, se face terapie sistemică)
- keratite acute, irite, conjunctivite

6. Intraarticular şi intratendinos local
(preparate cu acţiune lungă, de exemplu butilacetat terţiar de hidrocortizon sau prednison)
- afecţiuni monoarticulare şi tendinite acute

PRINCIPII ŞI RESPONSABILITĂŢI ÎN CORTICOTERAPIE

1. Corticoterapia va fi prescrisă numai după evaluarea tuturor riscurilor posibile. Pe lîngă boli în care indicaţia este obligatorie, există situaţii în care dependenţa de steroizi poate duce la o proastă administrare, cu toate dezavantajele ei consecutive, de exemplu în lupusul eritematos difuz, în astmul bronşic etc.

2. Diagnosticul, cît mai precis posibil, trebuie să preceadă terapia.

Majoritatea bolilor care au beneficiat de corticoterapie, inclusiv cele autoimune, au sau au avut etio-patogenia neclarificată în momentul introducerii acestui tratament.

Entuziasmul excesiv în folosirea steroizilor a dus la administrarea lor în orice situaţie clinică insuficient clarificată, unde alte mijloace tera-

Scanned with OKEN Scanner

peutice nu au dat rezultate. Această atitudine nu e indicată, deoarece există două riscuri:

a) atenuarea simptomelor bolii și ameliorarea stării psihice a bolnavului nu coincid cu vindecarea leziunilor anatomopatologice; mai mult chiar, efectele secundare ale steroidoterapiei sînt mascate;

b) diagnosticul bolii devine mai dificil și se ajunge mai tîrziu la tratamentul etio-patogenic necesar. De exemplu, sînt citate cazuri de anemii hemolitice în care s-au administrat automat corticoizi pe durată lungă, deși ulterior s-au găsit în sînge aglutinine la rece, iar hemoliza rapidă putea fi înlăturată prin simpla evitare a expunerii la frig (21).

3. Dozele de corticoizi necesare depind de tipul bolii, de forma clinică și de particularitățile individuale. Nu se poate elabora nici o schemă rigidă, aprecierea exactă a dozei este o expresie a artei medicale. Nu există o doză totală sau o durată minimă de administrare a glucocorticoizilor care să reprezinte limita de siguranță în provocarea efectelor secundare valabilă pentru toți pacienții, deoarece variațiile individuale sînt foarte largi (53).

În general, folosirea corticoterapiei în scop imunosupresiv, mezenchimolitic, impune cantități foarte mari, de circa 1 000 mg cortizol pe zi sau doze echivalente de produse sintetice.

În schimb, terapia de întreținere a unui transplant sau a unei boli autoimune se efectuează cu doze moderate (40—60 mg cortizol pe zi) sau chiar farmacofiziologice (20—30 mg cortizol pe zi), administrate zilnic sau în doze duble la două zile (49). În felul acesta scade frecvența efectelor secundare (vezi mai departe).

Pentru substituție se preferă dozele unice matinale, pentru inhibare — doze unice, nocturne.

Durata administrării trebuie să fie minimă. Doza va fi scăzută progresiv (cu 30% pe zi dozele enorme de imunosupresie acută și cu 25% la șapte zile dozele de întreținere). Micșorarea dozelor începe imediat ce starea clinică s-a ameliorat, ceea ce se observă de obicei în cinci-zece zile. Lipsa ameliorării presupune un diagnostic greșit, doze insuficiente, o resorbție incompletă (clarificată prin dozarea 11-OH-corticosteroizilor plasmatici) sau existența unei complicații nedepistate.

4. Criteriile de urmărire a efectelor corticoterapiei trebuie să fie specifice și cît mai strîns corelate cu leziunile anatomopatologice și fiziopatologice ale bolii. În majoritatea cazurilor, ameliorarea trebuie să se observe în șapte-zece zile, iar în respingerea acută a grefei, în două-trei zile (fac excepție unele boli sanguine, de exemplu, unele anemii hemolitice).

Senzația de euforie, scăderea temperaturii, a V.S.H., sînt criterii nespecifice, întîlnite la toți bolnavii tratați cu corticoizi, dînd medicului o falsă impresie de securitate. Dozarea steroizilor plasmatici nu ajută cu nimic clinicianului, ci doar urmărirea indicilor clinici specifici, de exemplu: frecvența scaunelor și greutatea corporală în colita ulceroasă, starea articulațiilor în poliartrita reumatoidă, ECG și lactic-dehidrogenaza în

Scanned with OKEN Scanner

transplantele cardiace; diureza, filtratul glomerular, ureea sanguină și natriureza în transplantele renale etc.

5. Prevenirea și decelarea complicațiilor sînt foarte importante, ținînd seama, pe de o parte, de dozele enorme în cure prelungite folosite în imunosupresie, pe de alta, de semnele clinice relativ discrete chiar în caz de complicații severe: pot apărea septicemii fără febră, perforații ale unui ulcer peptic cu ușor disconfort abdominal etc. (21). Principala cauză a mortalității în transplante nu ține de respingerea grefei, ci de complicațiile infecțioase strîns dependente de corticoterapie. Dintre toate metodele imunosupresive folosite actualmente, corticoterapia expune la cele mai multe complicații, dintre care unele (aspect cushingoid, hipertensiune, obezitate etc.) nici nu pot fi evitate.

Nu vom insista asupra măsurilor de combatere a complicațiilor, care vor fi prezentate o dată cu acestea. Remarcăm numai, în legătură cu principala complicație — infecția —, condițiile de hiposepsie și chiar asepsie în care trebuie hrăniți bolnavii supuși imunosupresiei în doze mari (de exemplu, cazurile cu grefe). Profilaxia cu antibiotice nu se recomandă, în schimb trebuie date antibioticele cu spectru larg, pe baza antibiogramei, în doze mari, de la primele semne de infecție. Profilaxia cu antifungice și imunoglobuline este tot mai larg folosită. Se încearcă scăderea dozelor de corticoizi în schemele de imunosupresie folosind serul și globulina antilimfocitară, sperînd că aceasta va determina o stare de toleranță, acționînd asupra imunității mediate celular și lăsînd astfel producția anticorpilor și capacitatea de apărare antiinfecțioasă a organismului aproape intacte.

Să nu uităm, ca particularitate a corticoterapiei, că glucocorticoizii sînt absolut necesari bunei funcționări a organismului. Orice întrerupere brutală a acestui tratament, fără a ne asigura că propria corticosuprarenală și-a reluat funcția, duce la semne grave de carență cu pericol *quo ad vitam*. Există variate metode de administrare și scădere treptată a dozelor de corticoizi, care previn aceste accidente (vezi *Partea a treia*).

ACCIDENTELE ȘI CONTRAINDICAȚIILE CORTICOTERAPIEI

Complicațiile corticoterapiei reprezintă principala limită a utilizării acestui excelent mijloc imunosupresiv. La dozele mari necesare pentru inhibarea proceselor imune patologice, ca și la dozele de întreținere administrate ani de zile, efectele secundare ale glucocorticoizilor sînt inevitabile. Ele apar ca expresie a efectului metabolic și sistemic al steroizilor (deci *stricto sensu* sînt reacții primare exagerate) și ca urmare a dereglării funcției sistemului hipotalamo-corticosuprarenal care asigură producția endogenă de cortizol.

Patologia endocrină ne oferă un tablou destul de complet al efectelor nocive provocate de o cantitate prea mare (sindroamele Cushing) sau prea mică (boala Addison) de glucocorticoizi. Cei douăzeci de ani de experiență clinică în corticoterapie au permis evidențierea a nenumărate alte noi as-

Scanned with OKEN Scanner

pecte, relevate de acțiunea asupra organismelor tinere sau în vîrstă, pe perioade scurte sau lungi, a unor doze mici, medii sau foarte mari de derivați cortizolici.

Factorii care influențează apariția incidentelor și accidentelor sînt:

1. *Doza și durata tratamentului.* Imunosupresia propriu-zisă (inhibarea respingerii grefei, a fenomenelor acute din formele severe ale bolilor autoimune) solicită doze foarte mari de derivați cortizolici (100—200 mg prednison/zi), mărind la maximum riscul complicațiilor, mai ales dacă sînt prelungite peste șapte-zece zile. Tratamentul de întreținere cu doze farmacofiziologice ridică problema funcționalității hipofizei și a suprarenalei proprii (vezi mai departe tulburările endocrine secundare corticoterapiei).

2. *Tipul glucocorticoizilor.* După cum am arătat anterior, noile produse sintetice au o mare activitate antiinflamatoare, fără să determine vreo retenție de apă și sodiu. Celelalte efecte secundare nu au fost încă înlăturate. În plus, există particularități ale fiecărui preparat: *a*) eliminarea de calciu și osteoporoza, mai frecvente după dexametazon și betametazon; b) acțiunea diabetogenă crește la substituenții metilați și fluorinați (comparativ cu cortizolul, considerat ca unitate, prednisonul are o acțiune diabetogenă=4, triamcinolonul=6, dexametazonul=30); *c*) epuizarea musculară și ulcerele frecvente după triamcinolon.

Prednisonul este de departe cel mai utilizat preparat, deoarece — la efecte secundare egale cu ale celorlalte produse sintetice și mai mică activitate inflamatoare — e mai ușor manipulat.

3. *Natura bolii sau a organului transplantat* capătă tot mai mare importanță. De exemplu, în transplantele renale la uremici, gastrita uremică favorizează apariția ulcerelor gastrice. În poliartrita reumatoidă și hemopatiile maligne, infecțiile sînt mult mai frecvente decît în hepatopatiile cronice sau în nefroza lipoidică etc.

4. *Reactivitatea individuală și predispoziția genetică.* Practica a arătat necesitatea adaptării tratamentului la fiecare individ în parte, deoarece — la aceleași doze — unii bolnavi suportă bine tratamentul, iar la alții apar complicații. Terenul joacă un rol important mai ales în apariția diabetului steroid, a hipertensiunii arteriale, a tulburărilor psihice (Cope, 1964) și a insuficienței corticosuprarenale secundare (53).

Complicațiile țin de exagerarea efectului glucocorticoidic asupra sistemelor enzimatice care participă la metabolismul glucidic, protidic și lipidic, la metabolismul apei și al electroliților, la capacitatea lor de a inhiba procesele inflamatoare și imunologice. Terapia imunosupresivă cu corticoizi realizează tocmai suprimarea proceselor imunologice, efect avantajos în respingerea grefelor și procesele patologice autoimune, dar dezavantajos în ceea ce privește capacitatea organismului de a se apăra de infecții. Încă n-a fost rezolvată această principală limită a terapiei imunosupresive: *nespecificitatea.* În consecință, complicațiile infecțioase secundare corticoterapiei imunosupresive constituie principalul efect nociv al acestui tratament, atît prin frecvența lor, cît și prin faptul că reprezintă

Scanned with OKEN Scanner

prima cauză a mortalității în transplantele de organ (Evans, 1969) și în bolile în care sînt folosite doze mari de steroizi. Complicațiile digestive urmează ca frecvență și gravitate.

A. Infecțiile. Glucocorticoizii reduc rezistența la infecții, fapt stabilit cu certitudine, datorită acțiunii lor imunosupresive și antiinflamatoare (vezi mai sus). A fost studiată interferența cortizonului cu efectul antibioticelor (55), fapt foarte probabil (24).

În clinică nu s-au observat diferențe între incidența infecțiilor la bolnavii cu artrită reumatoidă și lupus eritematos, tratați cu *doze mici* de corticoizi, și grupul de control (9; 113). Aceste date pledează pentru corelarea complicațiilor infecțioase cu efectele imunosupresive ale corticoterapiei, observabile numai la *doze mari*. Clinica transplantelor, în care infecțiile sînt principala cauză a mortalității și consecința directă a imunosupresiei, confirmă acest punct de vedere (Evans, 1969; Woodruff, 1969) (vezi *Partea a treia, capitolul 4*).

La aceleași doze, infectarea e mai frecventă în unele grupe de boli. Lepperer încadrează bolile după trei grade de predispoziție:

a) gradul maxim — poliartrita reumatoidă, lupusul eritematos, colita ulceroasă, hemopatiile maligne, colagenozele;

b) gradul moderat — febra reumatică, dermatitele, enteritele regionale, hepatita, cancerul;

c) gradul ușor — sindromul nefrotic, bolile hepatice cronice, alergiile respiratoare, sarcoidoza, sindromul postcardiotomie, sindromul Reiter.

În cazul transplantelor renale, infecția a provocat moartea în 16 din 55 de cazuri la Evans (1969), la 48 din 60 la Hiel și colab. (1967), la 8 din 20 de decese comunicate de Woodruff (1969) (vezi *Partea a treia, capitolul 4*).

Infecțiile sînt cele mai diverse: în primul rînd bacteriene, dar și fungice, virale, parazitare, adesea asociate. Există liste lungi cu agenții implicați: bacterii: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa,* grupa coliformă; dar și streptococi, *Klebsiella, Listeria monocitogenes* etc.; ciuperci: moniliaze, aspergiliaze (mai rar: nocardioze, mucormicoze, criptococoze, blastomicoze, histoplasmoze, *Allerscheriasis, Chromoblastomicosis, Torulosis glabrata, Rodotorula,* coccidioidomicoza); virusuri: varicela, herpesul zoster, vaccina, boala incluziilor citomegalice; paraziți: malaria, amibiaza, Strongyloidus, *Pneumocystis carinii* (24).

Clinic, *infecțiile* se manifestă sub trei aspecte: *1*) aspect clasic, ușor de depistat; *2*) alură torpidă, cu minimum de semne funcționale, obiective și generale, deși dispersarea și înmulțirea germenilor în organism continuă cu intensitate. Astfel pot scăpa nediagnosticate stări neobișnuit de zgomotoase în condiții obișnuite: pneumonii, peritonite, abcese hepatice (114), osteomielite (7), pielonefrite, endocardite, septicemii; *3*) agresiunea infecțioasă are un debut nedefinit, uneori de tip gripal, care face loc brusc, după 24—48 de ore, unui sindrom grav cu semne de colaps.

În caz de terapie prelungită cu doze mari de corticoizi (imunosupresoare), formele torpide sînt mai frecvente și capătă o gravitate excepțională. Orice întîrziere în tratament, chiar într-o simplă angină, poate fi

Scanned with OKEN Scanner

fatală, pe cînd intervenția promptă cu antibioticele adecvate poate salva cazuri disperate (Woodruff, 1969).

Tuberculoza merită o mențiune specială. Deși considerată clasic o contraindicație absolută a corticoterapiei, unele forme beneficiază actualmente de acest tratament. Infecția tuberculoasă este rară în transplantele renale supuse terapiei imunosupresive (93). În boli sistemice supuse corticoterapiei este mai frecventă, și anume în poliartrita reumatoidă, lupusul eritematos, tulburări hematologice sau sarcoidoză (incidență de 3,6%, Maycock și colab., 1963).

De aceea, după unii autori, corticoterapia trebuie însoțită de chimioprofilaxia antituberculoasă cu izoniazidă la toți bolnavii tuberculinopozitivi (116). Aceeași chimioprofilaxie va fi instituită subiecților supuși transplantelor de organe cu infecții tuberculoase în antecedente, chiar considerați vindecați (Evans, 1969).

Protecția împotriva complicațiilor infecțioase. Pericolul principal îl reprezintă bacteriile și ciupercile; în general, virusurile nu au pus probleme clinice grave (Woodruff, 1969), deși frecvența infecțiilor virale, mai ales cu agenți din grupa *Herpes viridae*, la pacienți cu organe transplantate e în creștere, iar antibioticele, vaccinurile și substanțele antivirale cunoscute actualmente (de exemplu, interferonul, 5-iodo-2-dezoxiuridina) sînt ineficace asupra familiei *Herpes* (33). În cadrul imunosupresiei, realizată cu glucocorticoizi administrați în doze adecvate, profilaxia și terapia infecțiilor capătă o pondere deosebită. Pericolul infecțiilor dinafară e redus hrănind bolnavul strict izolat în perioada riscului maxim (Woodruff, 1968). În transplantele de organe, această perioadă durează în medie cîteva săptămîni. Riscul infecțiilor din interior (de exemplu, invazie sanguină și/sau tisulară de către microorganisme din tractul alimentar, respirator etc.) e prevenit în modul cel mai adecvat printr-o vigilență neîntreruptă și tratament prompt specific (Woodruff, 1967). Nu se dau antibiotice profilactic, deoarece crește riscul selectării germenilor rezistenți și al dezvoltării infecțiilor fungice. Se admite numai chimioprofilaxia antituberculoasă și antifungică sau administrarea locală a antibioticelor la purtătorii de germeni, pe baza antibiogramei (Evans, 1969). În cazul particular al transplantului de organe, grefa trebuie controlată pentru a nu transmite microorganisme patogene sau cancer.

O dată declanșate, infecțiile trebuie tratate prompt, cu antibiotice adecvate; la nevoie se întrerup corticoterapia și celelalte mijloace imunosupresive. În transplante, aceasta duce la respingerea grefei; de aceea, în cazul particular al rinichilor, respingerea e prevenită prin îndepărtarea voluntară a grefei și retransplant după echilibrarea bolnavului prin hemodializă (Evans, 1969).

Riscul infecțiilor severe în cadrul imunosupresiei și mai ales în cursul corticoterapiei masive determină căutarea altor medicamente, cu efecte imunosupresive specifice, care să asigure inhibarea reacțiilor imune dăunătoare, fără să altereze capacitatea de apărare a organismului. Aceste mijloace terapeutice nu sînt însă cunoscute. Asocierea medicației antineoplazice scade doza necesară de steroizi, iar serul antilimfocitar pare să

Scanned with OKEN Scanner

realizeze imunosupresia și să influențeze mult mai puțin capacitatea de apărare antiinfecțioasă a organismului (Woodruff, 1969).

B. Accidentele digestive reprezintă a doua complicație majoră a corticoterapiei imunosupresive. În afara marii lor frecvențe, sînt grave, uneori mortale, cu atît mai mult cu cît pot surveni cu totul imprevizibil. Ulcerele gastrice și duodenale merită o atenție deosebită. Frecvența lor variază între 0 și 10% în statisticile care țin seama numai de simptomele subiective și între 16 și 31% în cele care au urmărit bolnavii radiologic. O evaluare a Comisiei americane de reumatologie arată că, la bolnavii care primesc peste 50 mg corticoizi/zi, frecvența ulcerelor e dublă față de cei cu doze mai mici. Ulcerele clorhidropeptice sînt întîlnite mai rar în colita ulceroasă, pemfigus (21) și mai des în reumatismele cronice (bolnavi care consumă cronic și alte medicații ulcerigene) și în cazul transplantelor renale la bolnavi cu insuficiență renală cronică la care există o gastrită uremică. Corticoizii pot provoca ulcere noi, pot redeschide ulcere la vechii ulceroși sau pot revela un ulcer latent ori terenul ulceros.

Proporția ulcerelor reactivate în raport cu ulcerele noi, create de tratament, nu a putut fi precizată pînă acum.

Ulcerele cortizonice au o serie de particularități. Ele apar ceva mai frecvent la femei, sînt adesea multiple, sub formă de ulcere sau ulcerații, predomină ca sediu pe stomac (ug 2 : ud 1), în special în regiunea pilorică, pe fețe și pe marea curbură și se caracterizează anatomic printr-o necroză extensivă, cu slabă reacție granulomatoasă și inflamatoare.

Din punct de vedere clinic, ulcerele pot fi uneori complet latente, fiind descoperite radiologic sau revelate de o complicație, alteori evoluează cu o simptomatologie frustă și atipică (arsuri, epigastralgii discrete, fără orar și periodicitate) sau, în fine, cu tabloul clinic al unui ulcer franc (mai rar).

Complicațiile sînt frecvente: hemoragiile mari reprezintă una din cauzele cele mai frecvente de moarte produsă de corticoterapie. Perforația poate fi pauci- sau asimptomatică, iar la ulceroșii avansați e întîlnită uneori chiar după doze mici de corticoizi. Menționăm că perforații cu aspect clinic atipic au fost semnalate și la nivelul intestinului, la bolnavii cu diverticuli sau cu colită ulceroasă. Unii autori cu deosebită experiență (21) neagă faptul că aceste droguri ar mări riscul hemoragiilor sau perforațiilor. Ei susțin că, spre deosebire de aspirină, nu a putut fi dovedit rolul corticoizilor în dezvoltarea sau agravarea unui ulcer, deși această părere e foarte răspîndită (21). Au fost incriminate diverse mecanisme: hiperclorhidrosecreție, modificare a structurii fizice și chimice a mucusului gastric, scădere a troficității peretelui gastric, tulburări vasculare.

În absența complicațiilor grave amintite, evoluția ulcerelor e favorabilă. Reducerea dozelor sau suprimarea corticoizilor duce la vindecarea ulcerului, care poate să dispară în cîteva săptămîni, dar poate să se prelungească și peste un an.

Alte complicații digestive ale corticoterapiei sînt: *candidiozele bucale* sau *intestinale*, *pancreatitele*, uneori acute, foarte grave, *necrozele colice*.

Scanned with OKEN Scanner

Ţinînd seama de incidenţa şi importanţa accidentelor digestive, se impun unele *concluzii practice:* în general, corticoterapia e contraindicată în ulcerele evolutive, la bolnavii cu antecedente de pancreatită acută şi, în genere, trebuie evitată la vechii ulceroşi. În toate cazurile de corticoterapie prelungită se va acorda o atenţie deosebită tubului digestiv, prin examene radiologice prealabile şi periodice în cursul tratamentului, regim antiulceros, antiacide şi anticolinergice, controale repetate hematologice şi pentru hemoragii oculte. Cînd avantajele corticoterapiei o cer, poate fi prescrisă chiar cu riscul agravării ulcerului, a cărui vindecare va întîrzia. Numai hemoragiile sau perforaţia impun oprirea glucocorticoizilor, însă riscul apariţiei lor prin corticoterapie e încă în discuţie, fiind negat de unii clinicieni (21).

C. Complicaţiile hidro-electrolitice şi cardio-vasculare sînt inevitabile în terapia imunosupresivă steroidală, fiind însă în general nepericuloase; nu impun modificări ale tratamentului.

Tulburările echilibrului hidro-electrolitic, altădată frecvente, în perioada de folosire a glucocorticoizilor naturali, au devenit mai rare după ce au fost introduse în terapeutică produsele sintetice. Ele constau în *pierdere de K* şi *retenţie de sare şi apă*.*

Pierderea de potasiu, consecinţă atît a catabolismului proteic, cît şi a inhibării retroresorbţiei tubulare, poate lua uneori proporţii mari (diabet potasic). Dintre corticoizii sintetici, triamcinolonul produce cea mai mare depleţie potasică, părînd să intervină şi în reglarea electrolitică celulară. Semnele principale ale epuizării capitalului potasic celular şi ale hipokaliemiei sînt: astenie musculară difuză, alterări miocardice mergînd pînă la sincopă mortală, anomalii electrocardiografice, balonare abdominală, constipaţie şi, mai rar, alcaloză hipocloremică.

Retenţia de sare şi apă se traduce prin creştere în greutate, edeme şi hipertensiune benignă, reversibilă, bine tolerată la subiectul cu aparat cardio-vascular intact, avînd însă o gravitate deosebită cînd vine să majo-

---

* Actualmente, o dată cu progresul endocrinologiei sînt evidenţiate noi aspecte ale intervenţiei glucocorticoizilor în metabolismul hidro-electrolitic cu implicaţii clinice. Se cunoaşte efectul diuretic al glucocorticoizilor, atît de evident încît nu avem dreptul să punem diagnosticul de edeme refractare la tratament sau de insuficienţă cardiacă ireductibilă pînă nu asociem la celelalte diuretice şi prednisonul (81). Acest efect se explică prin impermeabilizarea membranelor tubilor colectori, antagonizarea vasopresinei şi creşterea filtratului glomerular.

Pe de altă parte, la pacienţii cu corticoterapie de durată, chiar în doze mici, de întreţinere, apare un sindrom de pierdere de sodiu, care nu prezintă vreun risc în cazul dietei normosodate, însă necesită o corecţie în cazul dietelor hiposodate şi mai ales la copii (120). Natriureza provocată de glucocorticoizi în doze mici e independentă de nivelul aldosteronului: acesta e normal sau crescut la indivizi cu axul hipofizo-suprarenal inhibat de corticoterapia de întreţinere timp de 5—9 ani (120). Se pune problema modificării reabsorbţiei sodiului în tubul contort proximal (120) şi a factorului „trei" natriuretic (19). În schimb, în doze mari, imunosupresive, glucocorticoizii naturali sau sintetici inhibă producţia de aldosteron prin acţiune directă asupra corticosuprarenalei (120).

Prevenirea acestor complicaţii, aparent contradictorii cu efectul „clasic" al cortizolului, de retenţie hidro-salină, necesită o supraveghere atentă şi periodică a pacienţilor în tot timpul corticoterapiei.

reze o hipertensiune existentă. Cînd e absolut necesară, corticoterapia nu are contraindicații la un hipertensiv în primele stadii, cu condiția să i se asocieze o medicație hipotensoare eficace. Tratamentul creșterii ponderale și al edemelor cu diuretice hipokaliemiante poate fi periculos dacă are loc fără o suficientă protecție de ClK. Un fenomen care trebuie menționat constă în obținerea unui efect diuretic datorit corticoizilor, în tratamentul sindromului edematos din nefroze sau ciroze, în care eliminarea masivă cloruro-sodică urinară impune măsuri de supraveghere și eventual de corectare, pentru conservarea capitalului electrolitic plasmatic.

D. Complicațiile neuropsihice s-au împuținat de cînd au apărut produsele sintetice. Ele constau mai des în *reacții psihice ușoare:* euforie, impresie subiectivă de facilitare a funcțiilor intelectuale, insomnie, iritabilitate, idei ipohondrice, mai rar psihoze maniaco-depresive, paranoide, halucinatoare, stări schizofrenice, reacții epileptice, cu modificări ale EEG. Apar de obicei la bolnavi cu tulburări caracteriale evidente sau cu antecedente psihiatrice personale ori familiale. Pentru asemenea bolnavi, corticoterapia este în genere contraindicată; complicațiile neuropsihice cedează la reducerea dozelor sau după oprirea terapiei, de obicei repede, alteori însă după un timp mai îndelungat, în care pot persista stări secundare. Fenotiazinele sînt eficace în stările de agitație.

E. Complicațiile renale. Fără a provoca accidente renale propriu-zise, corticoterapia poate produce sau agrava tulburări renale și vasculare preexistente, în cursul unor nefropatii: creștere a tensiunii arteriale, apariție sau intensificare a hematuriei și proteinuriei, alterare a funcției renale, constituire sau decompensare a unei insuficiențe renale cronice. În nefropatiile hipokaliemice (nefrite ascendente, scleroze renale), corticoterapia accentuează hipokaliemia și transformă acidoza umorală în alcaloză metabolică.

Influența negativă în ce privește evoluția unor tulburări renale contraindică folosirea corticoizilor în sclerozele renale, în nefritele ascendente, anurii și în insuficiența renală cronică.

F. Modificările cutanate fac parte dintre efectele secundare ale corticoterapiei și sînt reprezentate de *subțiere a pielii* în unele regiuni, *striuri purpurii* cu localizare similară ca în boala Cushing, *acnee, hemoragii petețiale, eriteme faciale, accentuare a unor pigmentări preexistente. Hipertricoza* a fost semnalată mai mult după ACTH și e provocată de sporirea secreției de androgeni care însoțește producția de cortizol. *Atrofii cutanate* au fost observate uneori la nivelul unor injecții intraarticulare de corticoizi.

G. Complicațiile oculare merită și ele o scurtă mențiune, unele survenind în cursul unei corticoterapii generale, altele fiind consecința aplicării corticoizilor în coliruri, mai mult de către nespecialiști care nu cunosc accidentele oculare cortizonice, cu atît mai mult cu cît corticoterapia în doze mari, imunosupresive, este singura terapie de urgență eficace în unele boli oculare (de exemplu, în exoftalmia malignă) (131).

Scanned with OKEN Scanner

Sînt bine ştiute de oftalmologi *accidentele corneene* (ulcere, keratite), *cristaliniene* (cataracte subcapsulare posterioare), *vasculare retiniene* (embolie a arterei centrale), *edeme papilare, nevrita nervului optic, glaucomul* şi *herpesul cortizonic*. Existenţa unei keratite superficiale sau ulcerele corneene contraindică în general corticoterapia sau impun un consult oftalmologic. Cataracta cortizonică e de obicei benignă şi tulburările de vedere pe care le provoacă sînt neglijabile. Nu se ştie dacă persistă după reducerea dozelor de steroizi (21).

H. Tulburările metabolismului glucidic apar în special după doze mari de produse sintetice, la persoane cu un diabet latent, cu o stare prediabetică sau cu o predispoziţie familială. S-ar putea ca apariţia lor să fie accelerată şi nu provocată de corticoizi. Formele acestor manifestări variază de la o glicozurie moderată (mai frecvent întîlnită) cu glicemie normală sau moderat crescută şi toleranţă scăzută la glucoză, pînă la *diabetul steroid*, insulinorezistent, permanent. Noţiunea de diabet steroid este criticabilă, deoarece nu există o afectare metabolică primară produsă de steroizi; un diabet corticoid poate deveni manifest numai în cazul unei predispoziţii diabetice.

Diabetul steroid e caracterizat prin valori normale sau moderat crescute ale glicemiei, gravitate medie, tendinţă redusă la cetoacidoză, bilanţ azotat negativ, rezistenţă la insulină şi sensibilitate la sulfamide hipoglicemiante, dispariţie frecventă după oprirea corticoterapiei.

În producerea tulburărilor glicoreglatoare corticoidice au fost incriminate diverse mecanisme:

a) *scăderea utilizării periferice a glucozei* (controversată: în boala Cushing, utilizarea glucozei e normală sau crescută) (91);

b) *efectul antiinsulinic* al corticoizilor, bine stabilit;

c) *creşterea glucogenezei hepatice* prin stimularea activităţii glucozo-6-fosfatazei hepatice;

d) *stimularea neoglucogenezei hepatice* plecînd de la proteine, cert dovedită (24). Producţia crescută de glucoză din aminoacizii rezultaţi din hipercatabolismul proteic necesită, pentru menţinerea constantă a glicemiei, cantităţi crescute de insulină. Efectul final asupra metabolismului glucidic depinde de capacitatea de răspuns insulinic a organismului, insulina favorizînd sintezele proteice şi lipidice. În caz de răspuns bun pancreatic, tulburările sînt minore şi numai în lipsa unei riposte insulinice adecvate apare un diabet steroid.

Amintim cu acest prilej că acţiunea prodiabetică a glucocorticoizilor a fost utilizată de Fajans şi Conn (1954) pentru recunoaşterea diabetului latent sau asimptomatic în testul de toleranţă cu prednison-glucoză. Utilitatea testului e actualmente controversată;

e) alţi factori care, ca urmare a corticoterapiei, pot agrava tulburarea metabolică sînt: consumul mai mare de alimente datorită creşterii apetitului, rezistenţa faţă de acţiunea hipoglicemiantă a insulinei şi o scădere a pragului renal pentru glucoză, care explică apariţia unor glicozurii în absenţa hiperglicemiei;

Scanned with OKEN Scanner

f) în diabetul sever insulinorezistent, corticoterapia (de obicei 40 mg prednison pe zi) scade necesarul de insulină, efect aparent paradoxal. Este implicată scăderea anticorpilor antiinsulinici și a altor antagoniști (21).

În practică trebuie să adoptăm următoarea atitudine: în diabetul manifest, în stările prediabetice depistate prin hiperglicemia provocată și la persoanele cu antecedente familiale diabetice, corticoizii sînt formal contraindicați. Dacă glicozuria apare în cursul terapiei, se procedează la reducerea dozelor de corticoizi la un minimum eficace și se stabilește o rație glucidică adecvată, înainte ca glicozuria să dispară cu oprirea tratamentului. Cum neoglucogeneza crescută este efectul hipercatabolismului protidic indus de corticoizi, rația proteică trebuie mărită, iar în tratamentele prelungite e utilă și prescrierea unui anabolizant.

Cînd — în situațiile menționate mai sus — corticoterapia apare indispensabilă, se recomandă introducerea sulfamidelor hipoglicemiante sau, în caz de insulinoterapie preexistentă, adaptarea dozelor de insulină, corticoizi în doze mici și măsuri de prevenire a unor complicații infecțioase, favorizate mai ales de sumarea corticoizilor la diabetici.

I. Tulburările metabolismului lipidic. Obezitatea. Mai frecvente la copii și femei, se manifestă prin creștere ponderală și obezitate de tip cushingoid (inițial facies lunar, ulterior depozitare trunchiulară a țesutului adipos, cu aspect de „lămîie pe bețe de chibrit", la care depozitul adipos cervical realizează „ceafa de bizon"). Corticoizii produc obezitate prin favorizarea lipogenezei, stimularea apetitului cu aport crescut de grăsimi și creștere a retenției hidro-saline.

Creșterea ponderală și obezitatea sînt în raport direct cu tipul de corticoid folosit, cu doza și cu durata tratamentului. Apanaj mai ales al cortizonului, hidrocortizonului și în special al decadronului, ele apar mai rar după Δ-derivați și sînt practic inexistente după triamcinolon. Dozele mari administrate timp îndelungat produc și hiperlipemie, creștere a trigliceridelor, colesterolului, β-lipoproteinelor cu turbiditate a serului. În absența insulinei, dozele mari inhibă sinteza și utilizarea lipidelor și pot accentua osteogeneza. Obezitatea preexistentă nu constituie o contraindicație pentru corticoterapie, ci impune alegerea unui corticoid cu efecte hiperponderale cît mai reduse, de preferință triamcinolon, și prescrierea unui regim hipocaloric și hiposalin, bogat în proteine.

J. Tulburările metabolismului proteic. Osteoporoza și miopatia. Corticoizii duc la un bilanț azotat negativ, cu importante pierderi proteice din oase, mușchi, piele, vase, datorită creșterii catabolismului și insuficienței anabolismului proteic. Excesul de aminoacizi care rezultă e parțial eliminat prin rinichi, parțial dirijat spre ficat, unde e degradat spre uree sau utilizat pentru neoglucogeneză. Efectele asupra metabolismului proteic sînt mediate prin stimularea activității unor enzime care favorizează degradarea aminoacizilor și utilizarea lor în ciclul Krebs. Cum cortizolul inhibă sinteza și crește degradarea acizilor ribonucleici la periferie, ipoteza unui efect direct al corticoizilor asupra sintezei proteice la ribozomi, emisă de Hübener, nu

Scanned with OKEN Scanner

pare neverosimilă (vezi mai sus efectele corticoterapiei asupra acizilor nucleici).

Dintre derivații sintetici, triamcinolonul este în mod special catabolizant proteic și produce pierderi ponderale cu atrofii musculare și cutanate, pe cînd dexametazonul, stimulînd puternic apetitul, poate menține un bilanț metabolic convenabil. Totuși, au fost citate miopatii de cvadriceps după 11 săptămîni de dexametazon (2×2,5 mg pe zi) în astmul bronșic, tulburări atenuate la înlocuirea cu prednison (Golding și colab., 1960, citat de 20).

Principalele manifestări în tulburările metabolismului proteic sînt *osteopatia* și *miopatia cortizonică*, ambele consecințe ale unor corticoterapii prelungite.

Corticoizii pot produce o serie de *leziuni osoase:* fragilitate anormală, osteoporoză, necroze osoase aseptice (a capului femoral, humeral, tibial), osteoendoliză, deformări și fracturi spontane. Frecvența lor este apreciată variabil de statistici, care dau cifre de 7—58%. Osteoporoza poate fi evidențiată radiologic abia după cîteva luni de corticoterapie. Un rol favorizant îl joacă vîrsta, sexul feminin și imobilizarea la pat. Osteopatia cortizonică trece, schematic, prin trei faze evolutive:

— prima, mută clinic, dar cu semne radiologice de transparență crescută a osului;

— a doua e caracterizată prin dureri spontane la nivelul oaselor interesate, exacerbate la palpare, percuție și oboseală;

— a treia, a fracturilor spontane sau provocate de traumatisme minore (cvinte de tuse, de exemplu). Sediul de elecție al leziunilor osoase îl reprezintă rahisul, apoi ramura ischio-pubiană, gîtul femurului, coastele.

Examenul radiologic descoperă osteoporoza decalcifiantă și modificări predominant vertebrale: vertebre biconcave, în clepsidră, cuneiforme, cu vîrful anterior, mai ales la nivelul vertebrelor T_{6-7}.

La producerea accidentelor osoase participă mai multe acțiuni ale corticoizilor: creșterea catabolismului tramei proteice osoase, scăderea procesului de osteogeneză prin inhibarea activității osteoblaștilor, în timp ce osteoclaștii își continuă activitatea, scăderea absorbției intestinale de calciu (acțiune antivitaminică D și creștere a eliminării de calciu prin urină și fecale).

În anii din urmă au fost semnalate artropatii distructive mergînd pînă la necroza aseptică a capului femoral, humeral, ale oaselor genunchiului, apărute în special după corticoizi administrați intraarticular. Producerea lor este pusă în legătură cu atenuarea netă a durerii prin corticoterapie, ceea ce permite o activitate necontrolată, excesivă, și face posibilă lezarea capetelor osoase intraarticulare.

Importanța osteopatiei cortizonice nu trebuie neglijată, dar nici supraestimată, deoarece osteoporoza este în genere destul de frecventă la bătrîni, iar unele argumente pledează în favoarea tezei conform căreia influența corticoizilor este în oarecare măsură „marginală".

Posibilitatea complicațiilor osoase nu constituie o contraindicație a corticoterapiei, ci implică doar măsuri de prevenire (regim bogat în

Scanned with OKEN Scanner

proteine, administrare de anabolizante, mişcare) sau de tratament al osteopatiei constituite (aceleaşi măsuri, la care se adaugă vitamină D_2 şi calciu). Pentru ultimul există însă şi rezerve, deoarece cortizonul induce fixarea calciului şi în alte ţesuturi, cu riscul unei calcinoze arteriale şi al urmărilor ei posibile.

O altă expresie a perturbării metabolismului protidic o constituie *miopatia steroidiană*, observată în 80% din cazurile cu boală Cushing, în 3% din anemiile hemolitice tratate cu triamcinolon (Perkoff şi colab., 1959, citat de 20), în lupusul eritematos, în poliartrita reumatoidă tratată prelungit, mai ales cu triamcinolon. Ea se manifestă iniţial printr-un deficit muscular simetric al centurii pelvine şi al cvadricepşilor, mai rar şi al centurii scapulare, care poate evolua ulterior spre o adevărată amiotrofie, determinînd uneori dificultăţi însemnate la mers şi la urcarea scărilor. Miopatia steroidală este frecventă în forma uşoară, la care contribuie eventual şi boala de bază. Miopatia dispare în general la un complex de măsuri: regim hiperproteic, androgeni anabolizanţi, ClK (2—3 g/zi), masaj al muşchilor atrofiaţi. Este mai prudent să se înlocuiască derivaţii steroidali cu prednison sau prednisolon (21).

K. Corticoterapia, sarcina şi fătul. Riscul pentru mamă este mic, iar pentru făt, controversat. Bongiovanni şi colab. (15), urmărind 260 de gravide supuse corticoterapiei, găsesc în 20% din cazuri anomalii fetale la naştere (fără a se dovedi că erau datorite glucocorticoizilor). Reluînd problema în 1968, Warrell notează o creştere a numărului de morţi fetale, de anomalii fetale şi de leziuni placentare (124). Rolul teratogen al corticoterapiei a fost dovedit la animale, dar datele nu au fost confirmate la om (15; 21).

Insuficienţa corticosuprarenală fetală, după un tratament cu steroizi urmat de mamă, nu a fost dovedită cu certitudine, deşi este citată (24).

Se admite că, în general, corticoizii în doze de substituţie exercită o influenţă favorabilă asupra dezvoltării fătului, avînd rol permisiv. În doze mari, imunosupresive, sînt contraindicaţi în primul trimestru al sarcinii, cu excepţia cazurilor în care sînt prescrişi pentru a salva viaţa mamei (21).

TULBURĂRILE ENDOCRINE SECUNDARE CORTICOTERAPIEI

Vom menţiona numai efectele endocrine ale corticoterapiei cu implicaţii în terapeutică.

AXUL HIPOTALAMO-HIPOFIZO-CORTICOSUPRARENAL

În complicaţii severe, descrise la începutul folosirii steroizilor în clinică, s-a susţinut că ei ar avea o influenţă asupra producţiei endogene de cortizol (dozele utilizate atunci erau de altfel foarte mari, de tip imunosupresiv). Se credea că suprimarea bruscă a glucocorticoizilor exogeni, la sfîrşitul tratamentului sau la apariţia infecţiilor intercurente, provoacă tulburări clinice prin insuficienţă corticosuprarenală acută.

Scanned with OKEN Scanner

Tabloul clinic al sindromului de privare — întîlnit la un mic număr de bolnavi sau de subiecți normali care întrerup brusc corticoterapia — constă în oboseală, greață, mialgii, labilitate emoțională, depresiune, neliniște, subfebrilitate (2). Fenomenele nu țin de insuficiența suprarenală acută, deoarece, înainte și după administrarea ACTH-ului, corticosteroizii plasmatici sînt normali (Amatruda și colab., 1960, 1965). Mai mult, rezervele hipotalamo-hipofizare explorate cu insulină și metopiron arată numai o discretă alterare (depinzînd de doză și mai ales de durata administrării steroizilor, vezi mai departe). Sindromul de privare este explicat printr-o obișnuință celulară la glucocorticoizi (McCawley, 1965).

Există și situații în care devine evidentă o hipofuncție endogenă suprarenală; de exemplu, cînd după o îndelungată administrare de corticoizi în doze farmacologice apare o suprasolicitare a organismului (intervenție chirurgicală, infecție gravă etc.), iar medicul nu crește corespunzător aportul de steroizi exogeni. În aceste condiții se constată adinamie, hipotensiune pînă la colaps, grețuri și vărsături la 12—24 de ore după *stress*. În aceste cazuri, rare, trebuie administrați glucocorticoizi suprarenali (hidrocortizon și cortizon); se va proceda la o echilibrare hidroelectrolitică, prescriind eventual mineralosteroizi sintetici (DOCA sau fluorohidrocortizon); în caz extrem se asociază norartrinal (34).

Au fost studiate intens — fără să se ajungă la concluzii certe — frecvența cu care apare inhibiția clinic manifestă a axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal și relația cu doza și durata tratamentului. Atît autorii străini, cît și cei români citează date foarte diverse, atestînd o mare variabilitate (vezi Hicklin 1968, Păun 1968). În general, pentru suprimarea funcției axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal, doza trebuie să depășească nivelul fiziologic, adică echivalentul a 25 mg cortizol, cantitate care nu suprimă funcția axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal (Jeffries, 1967). Or, în terapia bolilor autoimune și în unele cazuri cu transplante de organe, dozele actuale de întreținere sînt tocmai de acest ordin (100; 56), ceea ce implică o inhibiție a axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal la 4 din 39 de bolnavi tratați (53).

Se admite că, la subiecții care au continuat terapia cu glucosteroizi, dezvoltarea unui aspect clinic cushingoid se asociază totdeauna cu un răspuns diminuat la metopiron. Or, aspectul cushingoid apare de obicei la bolnavii supuși corticoterapiei în doze imunosupresive.

În suprimarea funcției axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal există o succesiune bine determinată, primul fiind inhibat hipotalamusul, apoi hipofiza și în final suprarenala (24). Atrofia corticosuprarenală, realizată experimental pe animale, nu a putut fi observată la om nici după 16 ani de tratament continuu (Savage, 1969). Întreruperea corticoterapiei determină reluarea funcțiilor axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal în ordinea în care au fost suprimate (Graber, Liddle și colab., 1965).

Starea funcțională hipotalamo-hipofizară poate fi explorată în cursul tratamentului, cu testele uzual folosite în clinică, obținînd cu precizie datele menționate.

Scanned with OKEN Scanner

a) Teste statice: 1) dozarea ACTH-ului (63) nu se utilizează în practică, fiind foarte dificilă (la noi în țară, metoda nu este încă pusă la punct); *2)* ritmul nictemeral al secreției cortizolului (dozarea 11-hidroxisteroizilor ziua și noaptea sau a 17-hidroxisteroizilor în urina de 12 ore, de zi și de noapte) e cel mai fidel test; dispariția ritmului nictemeral este primul semn al dereglării funcției axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal.

b) Teste dinamice: 1) răspunsul la metopiron (67), un inhibitor al 11-β-hidroxilazei suprarenale (se administrează 750 mg metopiron la 6 ore, timp de 48 de ore; se dozează 17-hidrosteroizii urinari sau 11-hidroxisteroizii plasmatici înainte și după blocant). Testul este foarte utilizat, deși unii autori îl consideră nesatisfăcător (100); *2)* răspunsul cortizolului plasmatic la pirogen (dozarea 11-hidroxisteroizilor plasmatici de bază și la trei ore după administrarea unei substanțe pirogene). Testul explorează răspunsul axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal la *stress*, spre deosebire de proba la metopiron, care este expresia reglării prin *feedback*-ul cortizolic plasmatic. Secreția de *stress* hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal predomină totdeauna asupra secreției stimulate umoral; *3)* hipoglicemia insulinică (0,1 u. insulină cristalizată/kilocorp și dozarea 11-hidroxisteroizilor plasmatici sau a 17-hidroxisteroizilor urinari) e un tip de *stress* care acționează eliberînd factorii hipotalamici (61). Testul este dificil de executat ambulatoriu; *4)* administrarea de lizin-vasopresină, substanță care eliberează ACTH hipofizar, prin efect direct hipofizar (Bargmann, 1968) și, poate, eliberînd CRF *(corticotropin-releasing factor)** din eminența mediană. Testul este nou, cu valoare încă insuficient probată.

Starea funcțională a corticosuprarenalei (pe linia secreției de glicocorticoizi):

a) Teste statice: 1) dozarea 17-hidroxisteroizilor în urina din 24 de ore (valorile cu metoda Porter-Silber: la bărbat 4—7 mg/24 de ore, la femei 3,5—5,5 mg/24 de ore). Metoda evaluează cortizolul și cortizonul, dar și doi mineralosteroizi; *2)* dozarea 11-hidroxicorticosteroizilor plasmatici, metodă mult mai fidelă, intrată în practica clinică (valori de 20 ± 1 μg%).

b) Teste dinamice: 1) proba Thorn = 25 u.i. ACTH i.m. provoacă după 4 ore o eozinopenie de minimum 50% din valorile inițiale; *2)* stimularea cu ACTH natural sau sintetic (133) 3 zile și dozarea 17-hidroxisteroizilor urinari sau a 11-hidroxisteroizilor plasmatici este testul de certitudine pentru a aprecia funcționalitatea corticosuprarenalei. În mod normal, în ziua a doua de stimulare cu 100 u.i. ACTH-depozit, secreția cortizolică corticosuprarenală se dublează. În insuficiențele corticosuprarenale complete, valorile de bază și după stimulare ale 17-hidroxisteroizilor urinari și 11-hidroxicorticosteroizilor liberi plasmatici sînt scăzute (78). În formele incomplete de insuficiență, valorile sînt normale și se

* CRF = *corticotropin-releasing factor* = neurohormon hipotalamic cu rol de factor de eliberare al adrenocorticotropului hipofizar.

Scanned with OKEN Scanner

menţin uneori după două zile de stimulare cu ACTH, dar se prăbuşesc prin epuizarea suprarenalei în a treia zi de stimulare (78); *3*) probele de inhibiţie nu sînt utile în cazul hipofuncţiei axului hipotalamo-hipofizo-cortico-suprarenal.

În general, urmărirea ritmului nictemeral al 11-hidroxicorticosteroizilor liberi plasmatici (sau al 17-hidroxisteroizilor urinari), proba la metopiron (sau la insulină) şi stimularea cu ACTH ne dau o imagine fidelă în ce priveşte capacitatea funcţională a segmentelor axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal în cursul corticoterapiei. De exemplu, dispariţia ritmului nictemeral e un indiciu de tulburare a sistemului limbico-hipotalamic de reglare a secreţiei de ACTH; proba la metopiron negativă, asociată unui răspuns normal la ACTH, arată limitarea rezervelor hipofizare de ACTH; lipsa de stimulare cu ACTH pune diagnosticul de insuficienţă corticosuprarenală primară.

În cazul în care corticoizii sînt administraţi orb, fără testarea funcţionalităţii axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal, se pot instala insuficienţe suprarenale parţiale, fără manifestări clinice, care să devină evidente chiar la un an după întreruperea tratamentului, cu ocazia unui *stress* (24). Actualmente, investigaţiile hormonale sînt considerate obligatorii în corticoterapia de durată (100).

Dăm rezultatele obţinute de cîţiva autori cu deosebită experienţă, care au investigat axul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal la bolnavi cu poliartrită reumatoidă supuşi corticoterapiei de durată (pînă la 16 ani).

În 36 de cazuri urmărite de Savage (1969), rezervele hipotalamo-hipofizare, testate cu metopiron, erau intacte după doi ani şi un sfert de tratament cu prednisolon (40 mg pe zi). După acest interval, *feed-back*-ul se pierde la majoritatea pacienţilor.

În seria lui Jasani şi colab. (1967), numai 11 cazuri din 19 prezintă tulburări hipotalamo-hipofizare la testul cu arginin-vasopresină, insulină şi metopiron oral. La toţi, răspunsul la insulină e scăzut, însă trei răspund normal la vasopresină (deci, sistemul CRF hipotalamic e intact, doar eliberarea ACTH-ului din hipofiză fiind alterată).

Funcţia corticosuprarenalei scade abia după 4 ani şi jumătate de tratament cu doze uzuale, de întreţinere. Testul de stimulare cu ACTH sintetic (Synachten = β^{1-24}-tetracosapeptid) e pozitiv la toţi pacienţii lui Savage la 4 ani şi la 50% din bolnavii trataţi timp de 16 ani cu corticoizi (100). Atrofia corticosuprarenală, atît de des citată de clasici, nu survine nici după 16 ani de tratament. Întrerupînd corticoterapia progresiv (cu 1 mg pe lună sau 1 mg la trei luni şi jumătate) apar cel mult semne de privare, dramatice, dar nepericuloase şi nu se evidenţiază vreo insuficienţă corticosuprarenală (100).

După cum am menţionat, tulburarea axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal de către corticoterapie şi revenirea la normal au loc într-o ordine bine stabilită: întîi hipotalamusul, în al doilea rînd hipofiza şi în final lezarea corticosuprarenalei (54; 24). În cazul terapiei cu ACTH sintetic se pune numai problema funcţionalităţii hipotalamo-hipofizare. Studiile unor cercetători englezi arată că, la o zi după ce se

Scanned with OKEN Scanner

întrerupe administrarea ACTH-ului, ritmul nictemeral al cortizolului plasmatic este prezent, chiar după ani de zile de terapie, deci axul hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal e integru (82).

Tulburarea axului endogen hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal, sistem de importanță vitală pentru organism, explică de ce sînt obligatorii explorările hormonale în corticoterapie, deși reglarea dozelor și conducerea tratamentului au în vedere în primul rînd alte criterii (manifestările clinice și de laborator ale bolii tratate). Dozările hormonale au pus corticoterapia pe baze științifice, după expresia lui Savage (1969).

Pentru a preveni efectele corticoterapiei asupra axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal se recomandă ca:

a) să se prescrie dozele minime necesare pentru suprimarea sindromului morbid și pe un răstimp cît mai scurt (de exemplu, unii chirurgi folosesc prednisonul numai în momentul respingerii acute a organului transplantat);

b) doza utilă să fie spațiată în timp. Există mai multe variante, susținute de diverși autori (vezi *Partea a treia*). Evitarea dozelor nocturne cu maxim efect supresiv hipotalamic (83) și administrarea prednisonului în doze unice la două zile par metodele cel mai indicate (24);

c) să se evite pe cît posibil dexametazonul, cu efect inhibitor hipotalamo-hipofizar maxim, chiar administrat în zile alternative;

d) să se utilizeze ACTH sintetic (cel natural produce anticorpi) în locul prednisonului. Prezintă însă limite în imunosupresie, datorită producției limitate de cortizol endogen. Ca terapie de întreținere are dezavantajul că e mai scump și trebuie administrat în injecții (subcutanat); în schimb, nu produce insuficiență corticosuprarenală secundară (82) și nu interferează producția de hormon somatotrop (38);

e) nu are rost să se prescrie ACTH în cursul terapiei corticoide pentru a stimula propria suprarenală, deoarece nu favorizează ameliorările clinice și nici nu reglementează funcția suprarenalei cît timp centrii hipotalamo-hipofizari sînt inhibați. La sfîrșitul curei cu steroizi este indicat în principiu, dar se prescrie tot mai rar;

f) dozele să fie scăzute fracționat; principiul acesta trebuie neapărat respectat, deoarece asigură restabilirea *feedback*-ului endogen și reluarea funcției corticosuprarenale (vezi schema lui Thorn, 1966). După 10—16 ani de corticoterapie, dozele se reduc uneori cu 1 mg la 1—3 luni. Savage nu a reușit să oprească prednisonul în 24 din 36 de poliartrite reumatoide tratate îndelungat, datorită reactivării artritei. Deci, nu alterarea funcției axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal impune continuarea tratamentului, ci procesul patologic subiacent. De exemplu, Sauer (99) n-a putut opri tratamentul la 17% din 52 de pacienți cu colită ulceroasă tratați cu corticoizi, deoarece se exacerbau tulburările intestinale. Corticoterapia de durată mai scurtă poate fi suprimată scăzînd dozele cu 25—30% la 7 zile (în medie).

Corticodependența reprezintă o indicație de a asocia corticoterapiei imunosupresoare antineoplazice sau ser antilimfocitar.

Scanned with OKEN Scanner

PROCESUL DE CREȘTERE. HORMONUL SOMATOTROP

Glucocorticoterapia încetinește semnificativ mai mult creșterea copiilor decît bolile subiacente (29; 32). Nu se știe dacă la acest efect participă sau nu modificările metabolismului hormonului somatotrop. Glucocorticoizii (prednisonul și 6-metilprednisonul, mai mult decît cortizolul) par să inhibe creșterea (24; 35) antagonizînd specific somatotropul la nivel tisular. Scade de asemenea la adulți eliberarea STH, ca răspuns la hipoglicemia insulinică (Morris și colab., 1968), probabil prin reducerea STH-*releasing-factor* hipotalamic. La copiii astmatici tratați cu ACTH, alți autori nu observă același efect (38). Pentru a corecta defectul de creștere la copiii tratați cu corticoizi, somatotropul trebuie prescris în doze foarte mari, care să asigure un nivel plasmatic al STH de patru ori mai ridicat decît la normali (111); adesea rămîne ineficient (110). Aceste date, ca și faptul că în nanismele cortizonice nivelul STH seric e normal, pledează pentru mecanisme fiziopatologice tisulare, la receptori (35).

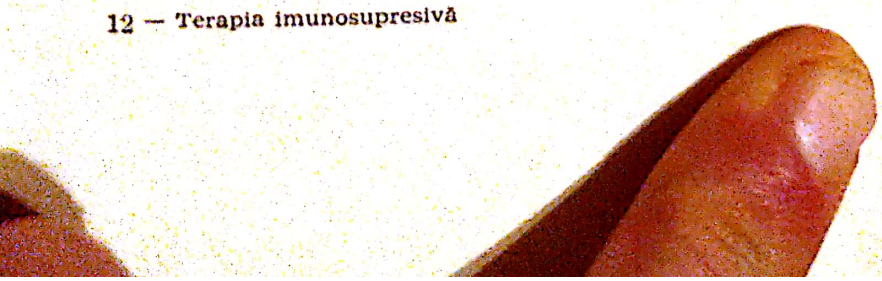
Glucosteroizii întîrzie mai puțin creșterea dacă sînt administrați în zile alternative (111). Cînd pericolul nanismului este clar, se recomandă reducerea sau întreruperea terapiei corticoide, sub protecția imunosupresoarelor antineoplazice (azatioprină) (Scheiffartz și colab., 1969) (vezi *Partea a treia*).

TIROIDA ȘI OVARUL

Există un *feedback* negativ nespecific prin care glucosteroizii plasmatici inhibă secreția *releasing-factorilor* hipotalamici ce eliberează tireotropul și gonadotropii hipofizari. Oligo-amenoreea și sterilitatea sînt frecvente la femei în boala Cushing, iar în tireotoxicoză apar adesea tulburări menstruale. La bărbați, unele studii recente (72) dovedesc deprimarea spermatogenezei (la 30 mg prednison/zi; efect absent la doze de 10 mg/zi). Hipotiroidia nu reprezintă un pericol, tiroxina liberă plasmatică nefiind modificată de glucocorticoizi (85).

Remarcăm uneori *efectul pozitiv* al corticoterapiei în tireotoxicoze. Din 1952, Frederickson, Thorn și colab. citează cazuri ameliorate cu doze masive de cortizon, de tip imunosupresiv. Aceste date sînt clarificate de evidențierea recentă a mecanismelor imunologice ale LATS*-ului ca factor patogenic în boala Basedow. Dozele convenționale de prednison nu modifică evident iodemia proteică (PBI=*protein bound iodine)* și iodocaptarea în cazurile de tireotoxicoză. În schimb, dozele imunosupresive scad titrul LATS-ului (131) și chiar îl fac să dispară (109) în cazurile de boală Graves-Basedow, mai ales cu exoftalmie malignă. Simultan se ameliorează starea clinică, ceea ce reprezintă un argument pentru natura autoimună a acestei boli (vezi *Partea a treia,* Terapia imunosupresivă în bolile endocrine).

* LATS = *long acting thyroid stimulator,* stimulator tiroidian cu acțiune prelungită, cu efect identic cu hormonul tireotrop hipofizar. LATS este produs în sistemul reticulo-histiocitar în anumite condiții patologice, și secreția sa nu e inhibată de creșterea nivelului hormonilor tiroidieni sanguini.



INSULINA

Antagonismul glucocorticoizilor cu insulina a fost menționat. Insulina imunoreactivă plasmatică crește sub corticoterapie (87), deși modificările metabolismului glucidic dovedesc ineficacitatea ei. Nu se știe dacă se ridică și nivelul insulinei active fiziologice sau numai al proinsulinei, întrucît metodele imunologice realizează o dozare globală.

PARATHORMONUL ȘI TIROCALCITONINA

Corelațiile glucocorticoizilor cu hormonii metabolismului calcic sînt destul de neclare, mai ales că datele asupra nivelului seric al hormonului paratiroidian și al tirocalcitoninei la om sînt nesemnificative (24). Problema merită toată atenția, mai ales în ce privește corticoterapia imunosupresivă în transplantele renale. Pacienții receptori prezintă adesea un hiperparatiroidism secundar insuficienței renale cronice. Numeroase date infirmă, deocamdată, un antagonism între glucocorticoizi și parathormon (24).

CONTRAINDICAȚII

Contraindicațiile corticoterapiei au devenit mai puțin rigide în ultimii zece ani. Mai ales utilizarea în scop imunosupresiv trebuie individualizată, adesea fiind vorba de o opțiune în situații grave, cu pericol *quo ad vitam*. Psihozele acute, ulcerul peptic activ complicat, procesele infecțioase sistemice, mai ales miliaria tuberculoasă, abcesele piogene și infecțiile fungice rezistente la tratament impun de obicei renunțarea la corticoterapie (34).

BIBLIOGRAFIE

1. *Allison F., Smith M., Wood W.* — Studies on the pathogenesis of acute inflammation. II. The action of cortisone on the inflammatory response to thermal injury. *J. exp. Med.*, 1955, 102, 669.
2. *Amatruda T. T., Hurst M. M., D'Esopo N. D.* — Certain endocrine and metabolic facet of the steroid withdrawal syndrome. *J. clin. Endocrin.*, 1965, *25*, 1 207.
3. *Arth G. E., Johnston D. B., Fried J., Spooner W., Hoff D., Sarret L. H.* — 16-methylated steroids. I. 16-α-methylated analogs of cortisone, a new group of anti-inflammatory steroids. *J. Amer. chem. Soc.*, 1958, 80, 3 160.
4. *Asboe-Hansen G.* — Endocrine control of connective tissue. *Am. J. Med.*, 1959, 26, 470.
5. *Ashton N., Cook C.* — *In vivo* observations of the effects of cortisone upon the blood vessels in rabbit ear chambers. *Brit. J. exp. Path.*, 1952, 33, 445.
6. *Bacon P. A., Daly J. R., Myles A. B., Savage O.* — Hypothalamo-pituitary-adrenal function in patients on long term adrenocorticotrophin therapy. *Ann. rheum. Dis.*, 1968, 27, 7.

Scanned with OKEN Scanner

7. *Baker M. A., Brain M. C., Miller J. K., Raphael M. J.* — Osteomyelitis: an unusual sequel to neutropenia. *Br. med. J.*, 1967, *1*, 722.
8. *Benditt E., Schiller S., Wong H., Dorfman A.* — Influence of ACTH and cortisone upon alteration in capillary permeability induced by hyaluronidase in rats. *Proc. Soc. exp. Biol.*, N. Y., 1950, 75, 782.
9. *Benedikt G., Montgomery M. M.* — The influence of ACTH and cortisone on the incidence of infection. *J. Lab. clin. Med.*, 1954, 44, 766.
10. *Benoit F., Theil G., Watten R.* — Hydroxyproline excretion in endocrine diseases. *Metabolism*, 1963, 12, 1 072.
11. *Berenbaum M. C.* — Immunosuppresive agents: modes of action. *Proc Roy. Soc. Med.*, 1967, 6 : 125—128.
12. *Berglund K.* — Studies on factors which condition the effect of cortisone on antibody production. 3. The significance of time of hormone administration in primary agglutinin response to *S. typhi H. Acta path. microbiol. scand.*, 1956, 38, 403.
13. *Bernstein S., Lenhard R. H., Allen W. S., Heller M., Littell R., Stocar S. M., Feldman L. I., Blank R. H.* — 16-hydroxylated steroids. IV. The synthesis of the 16-α-hydroxyderivatives of 9-α-halosteroids. *J. Amer. chem. Soc.*, 1956, *78*, 5 693.
14. *Bert G., Lajold D. C. D., Pecco P., Mazzei D.* — Effect of ALS and prednisolone on the electrophoretic mobility of lymphocytes. *Lancet*, I, 1970, 7 642, 365.
15. *Bongiovanni A. M., McPadden A. J.* — Steroids during pregnancy and possible foetal consequences. *Fertil.-Steril.*, 1960, *11*, 181.
16. *Chafee F., Settipane G.* — Asthma caused by *F, D* and *C* approved dyes. *J. Allergy*, 1967, 40, 65.
17. *Chowers I., Conforti M., Feldman S.* — Local effect of cortisol in the preoptic area on temperature regulation. *Am. J. Physiol.*, 1968, 214, 538.
18. *Cline M., Melmon K.* — Plasma kinins and cortisol: A possible explanation of the anti-inflammatory action of cortisol. *Science*, 1966, 153, 1 135.
19. *Coculescu M.* — Factorul „trei" natriuretic. *Stud. Cercet. Endocrinol.*, 1970, 21, 69.
20. *Coombs R. R. A.* — Types fondamentaux d'affections engendrant des réactions allergiques. *Triangle*, 1969, 9, 2 : 43—48.
21. *Cope C. L.* — Adrenal steroids and disease. The synthetic analogues. Pitman Medical Publishing Co., London, 1964, p. 540—583.
22. *Craig J. M.* — The histology of antigenically stimulated lymph nodes in rabbits given ACTH or cortisone. *Am. J. Path.*, 1952, 28, 629.
23. *Cruchand S., Tekul N.* — The effect of cortisone on the synthesys and distribution of antibodies in rabbits sensitized with iodine^{131} labelled human albumin. Physiopathology of the reticulo-endotelial system. Oxford, Blackwell, 1957, p. 245.
24. *David D. S., Grieco M. H., Cushman P.* — Adrenal glucocorticoids after twenty years. A review of their clinically relevant consequences. *J. chron. Dis.*, 1970, *22*, 10 : 637—711.
25. *Edwards J. A., Ringold H. J., Djerassi C.* — Synthesis of a new class of potent cortical hormones. 6-α-fluoro- — and 6-α, 9-α-difluoro-16-α-metil-prednisolon and related steroids. *J. Amer. chem. Soc.*, 1960, 82, 2 318.
26. *Ehrlich H. A., Hunt T.* — Effects of cortisone and vitamin A on wound healing. *Ann. Surg.*, 1968, 167, 324.
27. *Eisenstein A. E.* — Addison's disease: etiology and relationship to other endocrine disorders. *Med. Clin. N. Amer.*, 1968, 52, 2 : 327.
28. *Fajans S. S., Conn J. W.* — Ann approach to the prediction of diabetes mellitus by modification of glucose tolerance test with cortisone. *Diabetes*, 1954, *3*, 296.
29. *Falliers C. J., Tan L. S., Szentiványi J., Jorgensen J. R., Bukantz S. C.* — Childhood asthma and steroid therapy as influences on growth. *Am. J. dis. Child.*, 1963, 105, 127.

Scanned with OKEN Scanner

52. *Herzog H. L., Payne C. C., Jernik M. A., Gould D., Shapiro E. L., Oliveto E. P., Hershberg E. B.* — 11-oxygenated steroids. XIII. Synthesis and proof of structure of Δ^{1-4}-pregnandiene-17-α, 21-diol--3,11,20-trione, and Δ^{1-4}-pregnandiene-11-β, 17-α, 21-triol-3,20-dione. *J. Amer chem. Soc.*, 1955, 77, 4 781.
53. *Hicklin J. A., Willis M. R.* — Plasma cortisol response to Synachten in patients on long term small-dose prednisone therapy. *Amer. rheum. Dis.*, 1968, 27, 1 : 33—38.
54. *Jasani M. K., Boyal J. A., Grieg W. R., Dalakos T. G., Browning M. C. K., Thompson A., Buchanan W.* — Corticosteroid — induced suppression of the hypothalamic-pituitary adrenal axis: Observations on patients given oral corticosteroids for rheumatoid arthritis. *Q. J. Med.*, 1967, *36*, 261.
55. *Jawetz E.* — Effects of cortisone on therapeutic efficacy of antibiotics in experimental infections. *Arch. intern. Med.*, 1954, *93*, 850.
56. *Jeffries W. Mc. K.* — Low dose glucocorticoid therapy. *Arch. intern. Med.*, 1967, *119*, 265.
57. *Kaplan M. E., Jandl J. H.* — Inhibition of red cell sequestration by cortisone. *J. Exper. Med.*, 1961, 114 : 921—937.
58. *Kass E., Finland M.* — The role of adrenal steroids in infection and immunity. *New Engl. J. Med.*, 1951, 244, 464.
59. *Knox W. E., Auernach V. H., Lin E. C.* — Enzymatic and metabolic adaptations in animals. *Physiol. Rev.*, 1956, 36, 164.
60. *Laitiner O., Nikkila E., Kivirikko K.;* — Hydroxyproline in the serum and urine. Normal values and clinical significance. *Acta med. scand.*, 1966, 179, 275.
61. *Landon J., Wynn V., James V. H. T.* — The adrenocortical response to insulin-induced hypoglycemia. *J. Endocrin.*, 1963, *27*, 183.
62. *Landon J., Freeman M., Greenwood F.* — Antibodies to corticotrophin and their relation to adrenal function in children receiving corticotrophin therapy. *Lancet*, 1967, 1, 652.
63. *Landon J., James V. H. T., Wharton J. M., Friedman M.* — Threshold adrenocortical sensitivity in man and its possible application to corticotrophin bioassay. *Lancet*, 1967, 11, 697.
64. *Larson D., Tomlinson L.* — Quantitative antibody studies in man. I. *J. clin. Invest.*, 1951, 30, 1 451.
65. *Lee T. H., Lerner A. B., Buettner-Janusch V.* — Insolation and structure of human corticotropin (ACTH). *J. Am. chem. Soc.*, 1959, 81 : 6 084.
66. *Lepper M. H.* — Prophylaxis in patients receiving adrenal steroid therapy. *J. chron. Dis.*, 1963, *15*, 691.
67. *Liddle G. W., Estep H. L., Kendall J. W., Williams W. C., Townes A. C.* — Clinical application of a new test of pituitary reserve. *J. clin. Endocrin.*, 1959, *19*, 875.
68. *Lockey S.* — Allergic reactions due to *F*, *D* and *C* yellow No. 5 Tartragone, an alanine dye used as a colouring and identifying agent in various steroids. *Ann. Allergy*, 1959, 17, 719.
69. *Madden S.* — Urticaria following betamethasone. *J. Am. med. Ass.*, 1969, 207, 560.
70. *Makowan M. H., Makagawa S., White A.* — Studies on the mode of action of adrenal steroids on lymphocites. *Rec. Progr. Hormone Res.*, 1967, *23*, 195.
71. *Mancini R., Colombi P., Galli H., Orciuoli L.* — Effect of glucocorticoid hormones on experimentally induced allergic reactions on human skin. *J. Allergy.*, 1961, 32, 471.
72. *Mancini R., Lavieri J., Müller F., Andrada J. A., Saraceni D. J.* — Effect of prednisone on normal and pathologic human spermatogenesis. *Fertil. Steril.*, 1966, *17*, 500.
73. *Matiasevici D., Gershberg H.* — Studies on hydroxyproline excretion and corticosteroid-induced dwarfism. *Metabolism*, 1966, 15, 720.

Scanned with OKEN Scanner

3

RADIOTERAPIA

Introducere. Radiaţiile ionizante au fost utilizate în clinică pentru proprietăţile lor citotoxice şi antiinflamatoare, cu mult înainte de a li se bănui proprietăţile imunosupresive. Boli de autoagresiune au beneficiat de iradiere înainte de a li se cunoaşte patogenia autoimună. Transplantele de organ au determinat introducerea radioterapiei în clinică, pentru a obţine toleranţa gazdei faţă de grefă. Radioterapia a fost primul mijloc imunosupresiv utilizat în istoria medicinei. Datorită ei s-a consolidat ideea că în transplantarea organelor poate fi rupt barajul imunologic al receptorului.

Actualmente, alte mijloace imunosupresive au înlocuit iradierea, limitîndu-i mult indicaţiile, fără să o excludă însă complet.

Scurt istoric. Efectele imunosupresive ale roentgenterapiei au fost evidenţiate între 1915 şi 1920 de Hektoen şi aplicate în chirurgia experimentală a transplantelor de Murphy (1942) şi Dempster şi colab. (1950). Acesta din urmă observă creşterea de trei ori a supravieţuirii homografelor cutanate la iepure după expunerea receptorilor la o iradiere totală a corpului cu 250 rad, cu o zi înainte de transplantare (6). La om, în 1959, Hamburger şi colab. la Paris, şi Merril şi colab. la Boston, au realizat, graţie iradierii totale a receptorilor, primele transplante renale reuşite între indivizi neidentici (gemeni), ambii bolnavi fiind încă în viaţă în 1968, la 9 ani după operaţie (11).

În terapia bolilor autoimune, iradierea generală sau locală a precedat evidenţierea rolului său imunosupresiv (20).

Scanned with OKEN Scanner

BAZELE TEORETICE ALE RADIOTERAPIEI IMUNOSUPRESIVE

Radioterapia reprezintă un mijloc de imunosupresie nespecifică, similar citotoxicelor, splenectomiei etc.

a) Distrugînd celulele imunocompetente (în primul rînd limfocitele), realizează o toleranţă imunologică la orice *nonself*, efect favorabil în transplantări şi în bolile autoimune şi dăunător în infecţii exo- sau endogene. Nu mai insistăm asupra rolului limfocitelor în procesele imune umorale şi celulare, asupra existenţei infiltraţiei limfo-plasmocitare în orice organ supus respingerii sau leziunilor autoimune (vezi *Partea întîi, capitolul 1*).

b) Prin efectul antiinflamator, radiaţiile ionizante pot bloca mecanismele efectoare ale reacţiilor imune.

Radiosensibilitatea limfocitelor e mai mare decît a celorlalte elemente ale sîngelui circulant, însă variabilă, din motive incomplet clarificate.

După ce limfocitele au stabilit contactul cu antigenul şi au început diferenţierea şi proliferarea, radiosensibilitatea lor scade şi ele pot deveni chiar radiorezistente. Cu alte cuvinte, radiaţiile ionizante acţionează în perioada inductivă a răspunsului imun primar, fiind relativ ineficiente în perioada proliferativă. Acesta este motivul pentru care unii autori (78) recomandă ca terapia prin iradiere să preceadă cu 24 de ore transplantarea. Dixon şi McConahey susţin chiar că răspunsul primar anticorpic poate fi mult intensificat dacă se administrează o doză de 500 r la un interval adecvat după antigen; în aceste condiţii, proliferarea limfocitelor angajate imunologic, devenite radiorezistente, ar fi favorizată de golirea ţesutului limfoid de celulele neangajate imunologic şi ar intensifica reacţia imună (7). Cu atît mai mult răspunsul imun secundar şi hipersensibilitatea de tip tardiv, mediate de limfocite sensibilizate, ar fi radiorezistente (15).

În realitate, deşi limfocitele au o radiosensibilitate maximă în faza inductivă a răspunsului imun primar, iradierea are un efect imunosupresiv chiar administrată ulterior, inclusiv în hipersensibilitatea de tip tardiv (în respingerea grefei). Date clinice certe susţin acest punct de vedere: *a*) radioterapia se foloseşte tot mai puţin în profilaxia respingerii transplantelor şi tot mai des după declanşarea reacţiilor de respingere; *b*) în bolile autoimune de organ, iradierea localizată (de exemplu, în tiroidita Hashimoto, sindromul Mikulicz, miastenia gravă etc.) este eficace, deşi intervine într-o perioadă tardivă a procesului imun.

Radiosensibilitatea macrofagelor, a celulelor măduvei osoase hematogene, a celorlalte ţesuturi şi organe iradiate este un factor de prim ordin în utilizarea clinică a radiaţiilor ionizante. Celulele sistemului reticulo-histiocitar sînt mai radiorezistente decît limfocitele (vezi Bîrzu, Necula, 1970). Distrugerea lor ar putea contribui la efectele imunosupresive, ţinînd seama de rolul macrofagelor în fazele iniţiale, ca şi în mecanismele efectoare ale reacţiilor imune.

Scanned with OKEN Scanner

Aplazia țesutului hematopoetic și mai ales a măduvei osoase în cursul iradierii totale a corpului pare să acorde privilegii speciale receptorului (mai ales dacă se asociază timectomia) (8).

Dacă doza de iradiere e subletală, suficientă pentru o aplazie medulară totală, și receptorului (cobai, șoarece sau alte specii) i se transplantează țesut hematopoetic sau celule splenice de la alt animal de aceeași tulpină pură sau în unele condiții de la un animal din altă tulpină (18), acest țesut transplantat persistă nedefinit la receptor* (9; 22). Animalele care mențin acest transplant sînt denumite *himere de iradiere*. Ele nu numai că supraviețuiesc unor doze de radiații care altfel ar fi fost letale, dar dezvoltă o toleranță specifică la țesuturile donatorului. Explicația cea mai simplă a acestui fenomen o constituie faptul că toată producția de imunoglobuline a receptorului-himeră e realizată de țesutul hematopoetic sau splenic transplantat (19).

La om e dificil de indus o toleranță specifică pe această cale, deși echipa lui Mathé susține că a obținut un himerism de iradiere la un bolnav care a primit măduvă osoasă de la mai mulți donatori și a devenit himeră pentru unul din ei (Mathé, Amiel, 1964). Această metodă ar selecta donatorul potențial pentru grefe de rinichi, cord, etc., față de care receptorul ar avea o toleranță specifică (19).

Problema este însă mult mai complexă: la toți bolnavii cu transplante de măduvă osoasă, după iradierea totală cu doze subletale apare un sindrom secundar (deoarece restaurarea e alogenică), constînd mai ales în reacția grefei împotriva gazdei. Pentru controlul sindromului secundar sînt necesare alte mijloace imunosupresive. Supraviețuirea nu depășește 20 de luni (19).

În schimb, complicațiile infecțioase și hemoragice cresc foarte mult, ceea ce a restrîns la extrem indicațiile iradierii totale a organismului.

De altfel, conform legii lui Bergonié-Tribondeau (1906), radiosensibilitatea celulelor e cu atît mai mare cu cît perioada cariokinetică este mai lungă, activitatea reproductivă mai accentuată și gradul de diferențiere mai scăzut. Aceasta face ca peste o anumită doză de iradiere să apară leziuni ale epiteliului intestinal (prevenite la animale cu compuși sulfhidrilici de tip S_2-aminoetilizotiouroniu) (29) și gonadic. Leziunile intestinale sînt adesea mortale. În plus, iradierea afectează sistemele supracelulare de interacțiune și reglare, cu tulburarea întregului organism.

Acțiunea celulară a radiațiilor ionizante constă în inhibarea mitozelor și distrugerea directă a celulelor radiosensibile (în primul rînd a limfocitelor). Se constată depolimerizarea nucleoproteinelor, picnoza nucleilor, cariorexă, degenerări vacuolare ale citoplasmei, leziuni mitocondriale și permeabilizare a membranei celulare.

* De fapt, o stare de toleranță se realizează numai asociind iradierea letală cu timectomia, urmate de restaurarea izogenică a receptorului. În cazul restaurării *alogenice* se creează o *pseudotoleranță*, o situație instabilă care duce fie la respingerea tardivă a celulelor hematopoetice grefate (dispariția himerismului), fie la o boală secundară (reacția grefei împotriva gazdei) (8).

Scanned with OKEN Scanner

Aceste efecte se observă în primele ore după administrarea generală sau locală a unei doze corespunzătoare. Urmează o perioadă de fagocitare a resturilor, care devine completă în 24 de ore. După o perioadă de inactivitate, a cărei durată depinde de doza radiațiilor, urmează o perioadă de proliferare a limfoblaștilor rămași. În trei-patru săptămîni, țesutul limfoid e complet restaurat. Iradierea totală în doze subletale afectează puțin macrofagele, celulele tisulare și corpusculii Hassal timici (15; 17).

TEHNICĂ ȘI METODE DE ADMINISTRARE

TIPUL RADIAȚIILOR IONIZATE FOLOSITE ÎN TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ

1. razele X — surse de intensitate medie (90 KV), rar superioară (200 KV);

2. razele β — sursa e stronțiul sau ytriul 90. Profunzimea și penetrația sînt reglabile (fără poartă de ieșire);

3. razele γ — surse: cobalt^{60} sau cesiu^{137}, cu energie de 1 000—3 000 curie; avantaj prin dozimetria precisă pe care o permit;

4. razele ultraviolete — rar utilizate, datorită dificultăților dozimetriei și condițiilor impuse de slaba energie a fotonilor.

MOD DE ADMINISTRARE

1. *Iradierea totală a organismului în doze subletale,* actualmente cu indicații foarte restrînse. A fost utilizată cu succes în 30 de transplante renale de Hamburger (11), ca și de alți autori. Și-a păstrat indicațiile în transplantele de măduvă osoasă hematogenă realizate la bolnavi leucemici, la care se încearcă inițial distrugerea completă a celulelor anormale prin iradiere (19) și în sindroamele hemolitice prin transfuzie de sînge incompatibil. Hazel și colab. (12) comunică un caz cu incompatibilitate a grupului Keel și autoanticorpi nespecifici, ameliorat spectaculos prin asocierea transfuziilor la iradiere totală (40 rad în 5 zile), cu corticoterapie și imuran.

Se administrează de obicei înainte de transplantare, uneori repetîndu-se după operație. Dozele folosite au variat cu natura sursei, autorul, tipul transplantului sau boala în care sînt folosite. De exemplu, Mathé și colab. (19) iradiază bolnavii leucemici cu Co^{60}, cu două surse de 3 000—4 000 curie, eliberînd 5—6 rads/min, doza totală de iradiere, de circa 800 r, fiind fracționată în două ședințe la intervale de două ore.

Rezistența la infecții e mai mică decît la terapia cu citostatice, însă suficientă pentru ca bolnavii cu grefe să-și reia viața obișnuită după o lună sau două. Infecția și hemoragia (prin trombopenie și defecte de coagulare) sînt principalele riscuri ale iradierii totale, deși aceasta poate provoca și alte fenomene secundare: lezarea epiteliului intestinal, gona-

Scanned with OKEN Scanner

dic şi, în final, boala de iradiere. Leziunile intestinale limitează doza de iradiere chiar la animalele de experienţă*.

În transplantele renale iniţiale, rezultatele au fost deosebit de bune, bolnavii fiind încă în viaţă la nouă ani după operaţie (vezi *Partea a treia, capitolul 4*). Ulterior însă, frecvenţa şi gravitatea complicaţiilor au făcut să se renunţe la folosirea iradierii totale a corpului, atît în transplante, cît şi în boli autoimune. În transplantele de măduvă osoasă, în care această metodă e utilizată în speranţa de a obţine himerismul de iradiere, rezultatele sînt încă foarte slabe (patru supravieţuiri de maximum 20 de luni, din 24 de leucemii limfoblastice acute iradiate) (19); desigur, bolnavii la care se aplică au viaţa limitată în primul rînd prin boala de fond.

2. *Iradierea locală* a transplantului sau organului lezat de o boală autoimună organospecifică (de exemplu, tiroidita Hashimoto, sindromul Mickulicz şi Sjoegren) e modalitatea principală de utilizare a radioterapiei ca mijloc imunosupresiv. A fost folosită de asemenea în miastenia gravă (pe grupele musculare faciale, oculare, faringiene şi pe extremităţi) (25; Schwab, citat de 27; 12) şi în mod curent în afecţiuni reumatice cu componentă autoimună (poliartrita reumatoidă). Desigur, iradierea locală a fost utilizată înainte de a se cunoaşte natura autoimună a acestor boli (rolul patogen al proceselor autoimune nu este dovedit). S-a căutat să se explice efectele favorabile printr-o acţiune antiinflamatoare: resorbţia exsudatului şi a infiltratului limfo-plasmocitar. Datele actuale nu pot dovedi că acţiunea iradierii se exercită în primul rînd asupra verigilor procesului imunologic, mai ales că dozele utilizate sînt în general mici (acest aspect al problemei e comun aplicării clinice a tuturor mijloacelor considerate actualmente imunosupresive).

Aprofundarea cunoştinţelor noastre asupra procesului imun permite să se explice în felul următor efectele favorabile ale radioterapiei locale:

a) Transplantele reprezintă singura situaţie clinică în care e posibilă prevenirea răspunsului imun primar. Radioterapia locală efectuată în ziua transplantării şi repetată în zilele următoare (repetarea nu e obligatorie) (28) acţionează pe arcul aferent al procesului imun, pe limfocitele neangajate imunologic, radiosensibile, care, fiind distruse, nu vor mai fi sensibilizate de antigen. Unii autori (2) iradiază transplantul exclusiv postoperator (de exemplu, Barnard, în cazul prim cu transplant cardiac, a administrat 100 rad/în ziua a treia, 85 r/în a patra, 200 r în a cincea, a şaptea şi a noua zi).

b) Actualmente, radioterapia locală se instituie de obicei tardiv, după transplantare, în momentul respingerii grefei, sau în bolile autoimune organospecifice clinic manifeste. În această situaţie, procesul imunologic e în curs de desfăşurare. Iradierea interferează arcul eferent

---

* Experimental, doza de siguranţă de iradiere a putut fi considerabil mărită administrînd în prealabil compuşi sulfhidrilici, ca AET (S_2-aminoetilizotiouroniu). Şoarecii trataţi cu acest medicament au un epiteliu intestinal mai rezistent la iradiere. Transplantarea de ţesut hematopoetic, asociată cu administrarea AET, permite astfel utilizarea unor doze superioare de iradiere, cu efect imunosupresiv crescut (29).

Scanned with OKEN Scanner

al procesului imun, limfocitele sensibilizate sau purtînd anticorpi şi plasmocitele.

Cu toate că celulele angajate imunologic, care determină respingerea grefei şi procesul autoimun, sînt mai puţin radiosensibile, iradierea locală e foarte eficientă în aceste situaţii. McKay şi Burnet (20) consideră că roentgenterapia locală e un substituent al exciziei chirurgicale în bolile autoimune localizate (de exemplu, tiroidita Hashimoto); în respingerea acută a grefei, iradierea locală e utilizată de majoritatea chirurgilor (vezi capitolul *Transplante).*

În schimb, paradoxal, iradierea locală sistematică şi profilactică e abandonată actualmente de majoritatea chirurgilor, deoarece, dacă doza de iradiere atinge 1 500 r, pot apărea leziuni renale. Frecvenţa leziunilor glomerulare, constatate la bolnavii care au supravieţuit mult timp după grefare, s-ar putea explica prin iradierea sistematică întreprinsă (10).

c) Al treilea tip de radioterapie locală, iradierea organelor limfopoetice: a splinei, timusului, ganglionilor limfatici, distruge zone importante ale sistemului celulelor imunocompetente.

Dozele utilizate profilactic în transplante sînt în medie de 150 r în prima, a treia, a cincea şi a şasea zi după operaţie, doza totală nedepăşind 900 r (se asociază chimioterapia imunosupresivă).

Dozele administrate în caz de respingere acută a grefei (în asociere cu prednisonul şi eventual actinomicina *C*) sînt în general de 150 rad fiecare, repetate de trei ori (10) sau de două ori (Pichlemayer, 1969).

În sindromul Mickulicz şi Sjoegren se aplică o doză totală de circa 1 200 r pe fiecare parotidă, în decurs de 23 de zile, sau 850 r pe parotide şi 1 150 r pe glandele lacrimale în 18 zile (12).

În miastenia gravă fără timom se iradiază timusul. Santagada (25) citează 15 ameliorări din 19 cazuri tratate, iar Schwab (citat de 27), efecte pozitive în 50%. Hazel (12) foloseşte în acelaşi scop doze totale de 1 200—2 000 r de la surse cu putere de 1 pînă la 2,7 milicurii şi iradiază timusul (la trei iepuri efectuează timectomia), musculatura facială, faringiană şi a extremităţilor.

În tiroidita Hashimoto s-au utilizat doze medii de 1 500 r în 35 de zile, centrate pe tiroidă. Durerea a dispărut complet sub tratament, iar după şase săptămîni rămîne numai o induraţie minimă a glandei (12).

Doze mai mici, antiinflamatoare, se utilizează curent în tratamentul poliartritei reumatoide (26).

Iradierea splenică cu doza globală de circa 4 000 r poate determina o leucopenie de 2 000—3 000/mm^3 şi o trombocitopenie de 50 000/mm^3, fenomene trecătoare, cu revenire la valorile normale în două-trei săptămîni.

3. *Iradierea extracorporală* a sîngelui sau a limfei a dat rezultate interesante. Singură nu pare o metodă imunosupresivă eficace, însă ar putea potenţa alte modalităţi terapeutice, mai ales acţiunea serului antilimfocitar (10). Ideea iradierii extracorporale a sîngelui a fost realizată experimental de Gley şi Heymans în anul 1921, iar tehnica utilizată actualmente a fost pusă la punct de Cronkite, atît pentru sînge, cît şi pentru limfă (5).

Scanned with OKEN Scanner

Indicația majoră a acestei metode o constituie terapia formelor leucemice ale leucemiilor (distrugerea celulelor anormale din sîngele circulant). A fost utilizată însă și ca mijloc imunosupresiv, în transplantele de organe, cu rezultate în general slabe. Nu avem deocamdată date asupra utilizării ei în bolile autoimune. Baza rațională a folosirii acestei metode în scop imunosupresiv, ca și pentru metoda drenării canalului limfatic, constă în împuținarea celulelor imunocompetente (limfocitele circulante), știut fiind că există o circulație permanentă a limfocitelor în sensul: limfă → canal toracic → sînge → ganglioni → limfă (vezi *capitolul* 7) și că limfocitele au o radiosensibilitate mult mai mare decît celelalte elemente figurate ale sîngelui (radiorezistența polinuclearelor și a trombocitelor e ramarcabilă, iar eritrocitele sînt distruse numai de doze totale puternice) (5, 13).

Metoda iradierii limfei din canalul limfatic în circulație extracorporală utilizează aceeași aparatură ca pentru drenarea limfocitelor canalului și retrimiterea limfei în jugulară; pentru iradierea extracorporală a sîngelui se folosesc o derivație arterio-venoasă și instalația de rinichi artificial. Dozele medii sînt de 2—5 pînă la 20—30 microroentgen (μ r)/oră (Bîrzu, Necula, 1970). Doza iradierii extracorporale totale integrate e doza teoretică primită de un volum sanguin dat, pe toată durata unei ședințe; calculele au arătat că, după 6 ore de iradiere extracorporală, numai 60% din celule primesc această doză totală teoretică, în timp ce volumul sanguin total e iradiat de cel puțin trei ori pe oră (13).

Efectul cel mai net și constant al iradierii extracorporale îl constituie limfopenia, care e independentă de tipul radiațiilor utilizate (X, β, γ, ultraviolete etc.). Timpul cît persistă limfopenia depinde de doza tranzit (doza de iradiere primită de o unitate celulară de lichid cînd trece prin dreptul sursei). Limfopenia, importantă și constantă la animalele de experiență normale, e relativ inconstantă la oamenii cu limfopoeză patologică (leucemie limfoidă cronică). În leucemii acute, depleția limfocitară stimulează chiar centrii hematoformatori (4). Or, pentru a bloca desfășurarea proceselor imune, limfopenia trebuie să fie profundă și durabilă, atît în transplante, cît mai ales în bolile autoimune. Înseși aceste considerente teoretice explică limitele și slaba aplicabilitate practică a metodei.

Rezultatele obținute actualmente în imunosupresie cu metoda iradierii extracorporale se bazează mai mult pe experimente de transplantare a organelor la animale și cîteva transplante renale la om. La animale, iradierea extracorporală a canalului toracic a prelungit supraviețuirea grefelor de piele din partea posterioară a corpului, cele din partea anterioară fiind nemodificate (Cronkite și colab., 1967) (citat de 13). Iradierea extracorporală a sîngelui în aceleași condiții nu dă rezultate, iar timectomia prealabilă nu ameliorează efectul (Cronkite și colab., 1967) (citat de 13).

La 40 de bolnavi cu grefe renale izologe, tratați de la o sursă de stronțiu^{90} (emițător β), rezultatele au fost mediocre, iar depleția limfocitară sanguină nu a făcut să scadă infiltrația limfocitară a grefonului (24; 14). După Rosengren și colab. (24), s-ar observa ameliorarea valorii

Scanned with OKEN Scanner

funcţionale a grefonului tolerat (în toate aceste cazuri a fost asociată chimioterapia imunosupresivă).

Deci, iradierea extracorporală a sîngelui şi a limfei nu reprezintă o metodă imunosupresivă eficace la ora actuală; se studiază efectul ei în asociere cu alte metode, mai ales cu serul antilimfocitar.

4. *Limfografia radioactivă* urmăreşte distrugerea sistemului limfoid injectînd substanţe radioactive în căile limfatice (lipiodol marcat cu aur, bismut, ytriu, iod^{131}). Ratti şi Chiappa, în 1961 (citaţi de Bîrzu şi Necula, 1970), au folosit pentru prima dată radioterapia endolimfatică.

În clinică n-a fost utilizată pînă în prezent în scop imunosupresiv, ci în tratamentul limfo-hemopatiilor maligne (mai ales boala Hodgkin, limfosarcom şi reticulosarcom), în doze de 25 μCu pe fiecare picior, izolînd bolnavul timp de opt zile. Experimental a fost folosită şi în transplantele de organe, fără să se poată trage deocamdată concluzii certe.

5. *Folosirea izotopilor radioactivi* administraţi pe cale generală pentru tratamentul unor boli cu componentă autoimună a dat succese în terapia hipertiroidiilor, cu mult înainte de a se bănui intervenţia unui proces autoimun în patogenia bolii Graves-Basedow. Actualmente se cunoaşte stimulatorul tiroidian cu acţiune prelungită (LATS= *long-acting thyroid stimulator),* existent în serul bolnavilor cu tireotoxicoză (Adams şi Purves, 1956, confirmat de numeroşi alţi cercetători), şi în culturile de leucocite de la bolnavi cu tireotoxicoză. Activitatea acestui stimulator depinde de legătura cu imunoglobulina *G,* desfacerea lanţului LATS-Ig*G* alterînd activitatea şi dînd produşi cu activitate de tip tireotrop, însă neatacată de serul anti-TSH (21). Aceasta pune problema echivalării LATS cu un autoanticorp tiroidian la un antigen necunoscut (se pare de natură microzomală tiroidiană) (vezi 16). Dovezile în sprijinul acestei afirmaţii sînt următoarele (vezi 21; 23):

a) LATS a putut fi demonstrat în fracţiunea de tip imunoglobulină *G* purificată din serul bolnavului;

b) fragmentul *Fab* (fragmentul care leagă antigenul = *antigen binding fragment)* obţinut din scindarea cu papaină a imunoglobulinei *G* este încă tiroidostimulator;

c) activitatea LATS la şoarece poate fi neutralizată cu un ser antiimunoglobulină *G,* nu însă cu un ser anti-TSH;

d) activitatea LATS poate fi complet absorbită din plasmă prin incubare cu microzomi tiroidieni, nu şi de alte organe;

e) LATS poate fi izolat din celulele limfoide;

f) serul de iepure imunizat cu microzomi de tiroidă umană are proprietăţi tiroidostimulante.

LATS-ul e singurul autoanticorp cunoscut care stimulează activitatea unui organ sau a unei glande (Munro, 1967). Administrat la animale cîteva zile poate determina apariţia guşii (Ochi şi De Groot); pe de altă parte, LATS eliberează hormonii tiroidieni din tiroida omului şi a animalelor, şi stimulează toate etapele activităţii ţesutului tiroidian (McKenzie, 1968).

Scanned with OKEN Scanner

Or, tratamentul cu iod radioactiv administrat *per os* realizează o adevărată tiroidectomie, în multe cazuri fiind chiar preferabilă acesteia (16). Astfel, scade nu numai cantitatea de țesut care să sintetizeze hormoni, dar și cantitatea de antigen tiroidian care să întrețină producerea LATS. Desigur, această interpretare e ipotetică.

În concluzie, radioterapia e un mijloc imunosupresiv actual și eficace, ca adjuvant al unei terapii imunosupresive complexe. Metoda cea mai utilizată constă în iradierea locală a organului cu leziuni autoimune sau cu leziuni de respingere în cadrul transplantelor. Urmează să se perfecționeze noi metode de iradiere, actualmente în stadiu experimental.

BIBLIOGRAFIE

1. *Adams D., Purves H.* — Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. *Proc. Univ. Otajo. Med. School.*, 1956, 34 : 11.
2. *Barnard C.* — Clinical heart transplantation, *in:* Organ transplantation today. *Excerpta,* Amsterdam, 1969, 248.
3. *Bîrzu I., Necula V.* — Radioterapia, *in:* Limforeticulohemoblastoze. Ed. medicală, București, 1970.
4. *Bullimore J. A., Chan B. W., Hayhoe F.* — *Nature,* 1969, 221.
5. *Cronkite E. P.* — Déplétion lymphocitaire par irradiation extracorporelle du sang et de la lymphe. *Nouv. Rev. Fr. Hémat.*, 1968, 8, 643.
6. *Dempster W. J., Lennox B., Boag J. W.* — Prolongation of survival of skin homotransplants in the rabbit by irradiation of the host. *Brit. J. exp. Path.*, 1950, 31, 670.
7. *Dixon F. J., McConahey P. J.* — Enhancement of antibody formation by whole body radiation. *J. Exp. Med.*, 1863, *117*, 833.
8. *Duplan J. F.* — Inhibition des réactions immunitaires par les radiations ionisantes. *Méd. Hyg.*, 1969, *27*, 894 : 1 396.
9. *Ford C. E., Hamerton J. L., Barnes D. W. Loutit J.* — Cytological identification of radiation chimaeras. *Nature (Lond.)*, 1956, 177, 452.
10. *Fries D.* — Nouvelles méthodes d'immunosuppression en transplantation humaine. *Cah. méd. lyon.*, 1968, 44, 25 : 2 569—2 578.
11. *Hamburger J.* — Renal transplantation, *in*: Organ transplantation today, *Excerpta,* Amsterdam, 1969, 276.
12. *Hazel J., Bouchard J.* — Radiation therapy and autoimmune disease. *J. Canad. Ass. Rad.*, 1968, *19*, 3 : 117—120.
13. *Hollard D.* — Irradiation extra-corporelle et immunosuppression. *Cah. méd. lyon.*, 1970, 46, 8 : 693.
14. *Hume D., Wolf J.* — Abrogation of the immune response. Irradiation therapy and lymphocyte depletion. Modification of renal homogreft rejection by irradiation. *Transplantation,* 1967, 5, 1 174.
15. *Humphrey J. H.* — The suppression of immune response by nonspecific agents. Immunological diseases. Max Samter (ed.), Little Brown & Co., Boston, 1965, p. 100.
16. *Ingbar S., Woeber K.* — The thyroid, *in:* R. Williams, Textbook of endocrinology, Saunders, Philadelphia, 1968.
17. *Koch H.* — Immunosuppression. Ein aktuelles Thema in Nathurwissenschaft und Medizin (II. Teil). *Öster. Apoth. Ztg.*, 1969, 280, 7, 367.
18. *Lorenz E., Congdon C., Uphoff D.* — Modification of acute irradiation injury in mice and guinea-pigs by bone marrow injections. *Radiology,* 1962, 58, 863.

Scanned with OKEN Scanner

4

SERUL ANTILIMFOCITAR

Controlul răspunsului imunologic prin mijloace terapeutice a devenit din ce în ce mai important de cînd s-a constatat că poate avea un rol patogen în multe procese morbide şi mai ales de cînd transplantarea ţesuturilor a devenit o formă de tratament. Metodele curente, care folosesc o varietate de agenţi citotoxici, au defectul major de a fi complet nespecifice. Ele au ca rezultat, în dozele administrate, o scădere periculoasă a capacităţii de apărare a organismului împotriva microorganismelor invadante.

Recenta folosire a serului antilimfocitar heterolog ca un nou agent imunosupresiv a provocat mult interes, întrucît pare să acţioneze mai specific în inhibarea reacţiei la alografă, cu relativa conservare a celorlalte răspunsuri imune.

Proprietăţile serului antilimfocitar au fost studiate de aproape 70 de ani. Aşa-numitul „ser citotoxic" a fost experimentat îndeosebi de cercetătorii ruşi după descoperirea leucoaglutinării şi leucotoxicităţii de către Mecinikov în 1899. Se pretindea că ar avea efecte binefăcătoare într-o mare varietate de boli, inclusiv cancerul, artritele şi schizofrenia.

În ultimii nouă ani s-au acumulat informaţii considerabile cu privire la proprietăţile imunosupresive şi la alte însuşiri ale serului antilimfocitar heterolog.

Waksman, Arbouys şi Arnason (1961) au fost primii care au comunicat unele dintre proprietăţile lui: inhibă net răspunsul cutanat întîrziat, întîrzie respingerea homografei (prelungeşte supravieţuirea homografei) chiar cînd transplantarea s-a făcut împotriva unor bariere importante de histocompatibilitate, are un efect mai redus asupra formării de anticorpi umorali (46). Investigaţiile ulterioare ale lui Woodruff şi Andersen (1963, 1964) catalizează un larg interes asupra posibilităţilor terapeutice ale unui astfel de antiser (47; 48).

Scanned with OKEN Scanner

Din 1963, serul antilimfocitar a făcut subiectul unor studii intensive (30; 25; 21; 18; 43). În timpul ultimilor trei ani, globulinele derivate din ser au fost folosite pentru a inhiba respingerea alogrefelor renale (Storzl şi colab., 1969; 45), hepatice (42) şi cardiace la om.

Serul antilimfocitar e un ser imun care conţine activitate anticorpică antilimfocitară. Partea sa activă e constituită din imunoglobuline din clasa imunoglobulinelor *G* (7 S), îndreptate împotriva antigenelor prezente în sau pe limfocite, fără să fie specifice limfocitelor. Limfocitele sînt probabil ţinta acţiunii serului antilimfocitar.

Globulina antilimfocitară e o fracţiune a serului antilimfocitar, parţial sau complet purificată, conţinînd imunoglobuline cu activitate de anticorpi.

PREPARAREA SERULUI ANTILIMFOCITAR

Serul antilimfocitar heterolog sau xenogenic e preparat prin imunizarea unei specii animale cu celule limfoide provenite de la o altă specie.

Sursa antigenului. Se pot realiza imunizări cu limfocite, obţinute din splină, ganglioni limfatici, timus, ductul toracic sau sîngele periferic de la animale sau om. Este foarte importantă obţinerea unui antigen care va da naştere unor anticorpi specifici antilimfocitari şi nu va reacţiona şi cu alte elemente celulare sau proteine serice. În ciuda purificărilor şi spălărilor repetate, antigenul care se injectează conţine, pe lîngă limfocite, şi urme de ser sanguin, leucocite polimorfonucleare, hematii.

De aceea, în serul animalului imunizat, în afara anticorpilor specifici antilimfocitari apar şi anticorpi nedoriţi (precipitanţi, hemaglutinanţi, leucoaglutinanţi, antitrombocitari), răspunzători de unele dintre efectele secundare ale serului antilimfocitar.

Se încearcă purificarea serului antilimfocitar de aceşti anticorpi prin absorbţia cu ser sanguin, hematii, omogenate de rinichi şi ficat. De asemenea, această activitate poate fi eliminată fără absorbţii selecţionînd adecvat speciile animale pentru imunizare şi fracţionînd serul antilimfocitar.

Sursa cea mai satisfăcătoare şi convenabilă a unei populaţii relativ omogene de limfocite mici este timusul (6). Splina, ganglionii limfatici şi sîngele periferic prezintă o mai mare varietate de celule şi proteine contaminante şi serul obţinut are nete efecte nocive (32). Imunizarea cu material splenic are ca rezultat producerea de hemaglutinine şi anticorpi antitrombocitari, greu de îndepărtat fără o importantă pierdere a activităţii imunosupresive.

De obicei, imunizarea cu populaţii de limfocite purificate, obţinute pe coloană cu gradient de albumină, nu duce la o creştere semnificativă a titrului hemaglutininelor din serul animalului imunizat.

În prezent se încearcă fracţionări celulare ale limfocitelor pentru a obţine o activitate mai specifică antilimfocitară. Au fost studiate sis-

Scanned with OKEN Scanner

tematic activităţile imunosupresive ale serului antilimfocitar preparat prin imunizarea cu diferite componente subcelulare ale limfocitelor.

Levey şi Medawar au constatat că cea mai specifică activitate antilimfocitară se obţine cu o fracţiune lipoproteică insolubilă. Pentru prepararea serului antilimfocitar sînt preferate astăzi limfocitele din canalul toracic, timus sau din culturile de limfocite *in vitro*.

Tehnica cea mai des folosită pentru imunizarea animalelor este aceea a lui Gray, Monaco, Wood şi Russel (16), utilizînd injectarea subcutanată a antigenului cu adjuvant Freund, sau a lui Levey şi Medawar (1966, 1967), care administrează de două ori, intravenos, o suspensie limfocitară la intervale de două săptămîni. Serul se recoltează la şapte zile după a doua injectare (26; 27).

Folosirea adjuvantului produce de obicei un titru mai înalt de antiser, dar creşte de asemenea incidenţa anticorpilor la urmele contaminante din amestecul imunizant. Folosirea injectării intravenoase reduce în general incidenţa anticorpilor la antigenele contaminante, dar rezultă titruri mai mici ale serului antilimfocitar.

Serul imun obţinut după două-trei inoculări are un titru mai mic, dar e lipsit de toxicitate şi nu produce dureri la locul injectării.

Inoculările repetate la animale dau titruri înalte, dar serul antilimfocitar astfel obţinut are importante efecte toxice şi provoacă dureri la locul de inoculare.

Anticorpii. Speciile animale. Cei mai mulţi cercetători au folosit iepuri, care produc un antiser eficace, cu activitate anticorpică în fracţiunea imunoglobulinelor *G* bine caracterizată şi uşor de purificat. Calul a fost folosit pentru cele mai multe aplicaţii la om.

Deşi serul antilimfocitar preparat pe o specie e de obicei un agent imunosupresiv eficace cînd e administrat speciei de la care proveneau limfocitele pentru imunizare, aceasta nu se întîmplă totdeauna. De exemplu, serul antilimfocitar de oaie antilimfocite de cîine nu pare să fie eficace. Serul antilimfocitar de cîine antilimfocite de şobolan produce leucoaglutinare şi leucocitoxicitate, dar nu prelungeşte supravieţuirea alogrefei la şobolani. De aceea, alegerea speciei pe care se prepară serul antilimfocitar are o maximă importanţă.

Se va alege acea specie a cărei imunoglobulină administrată la om are semiviaţa cea mai lungă şi e aptă să fixeze complementul de om (se ştie, de exemplu, că serul antilimfocitar preparat pe raţă şi găină nu fixează complementul de iepure şi cobai, ci numai pe cel de pasăre). Deoarece fiecare animal (specie) produce anticorpi împotriva a diferiţi determinanţi antigenici de pe limfocit rezultă că amestecul de populaţii moleculare provenind de la mai multe animale de aceeaşi specie sau de la specii diferite ar putea spori eficacitatea serului antilimfocitar (24).

La selecţia speciilor animale pentru prepararea serului antilimfocitar destinat utilizării la om trebuie să se ţină seama şi de prezenţa hemaglutininelor întîlnite în mod natural, care reacţionează încrucişat cu hematiile altor specii, provocînd astfel la om reacţii hemolitice. Din acest punct de vedere, capra e o specie potrivită pentru producerea serului antilimfocitar uman.

Scanned with OKEN Scanner

Testarea *in vitro* a serului antilimfocitar trebuie să includă limfoaglutinarea, limfocitotoxicitatea (liza limfocitelor în prezența complementului), stimularea transformării blastice și demonstrarea învelirii limfocitelor de către imunoglobuline (3; 15).

Testarea *in vivo* se face pe maimuțe (cimpanzei), care au antigene leucocitare comune cu omul, astfel încît e foarte probabil ca serul antilimfocitar imunosupresiv pentru cimpanzei să fie de asemenea imunosupresiv pentru om (23).

Lance (1969) propune pentru testarea eficacității serului antilimfocitar următorul procedeu: limfocitele prelevate de la subiectul ce va primi serul sînt marcate cu Cr^{51} și reinjectate după administrarea dozei test de ser antilimfocitar. Limfocitele distruse vor fi fagocitate de splină și de ficat. Cu ajutorul unui excitator de scintilație se decelează aglomerarea trasorului radioactiv la acest nivel, ceea ce demonstrează eficacitatea serului antilimfocitar în procesul de citoliză.

Constatarea că întreaga acțiune a serului antilimfocitar e concentrată în fracțiunea imunoglobulinei *G* (7 S) a făcut ca în imunosupresie să fie folosită numai această fracțiune obținută prin precipitări repetate cu sulfat de amoniu sau cromatografie și electroforeză (procedee biochimice mai blînde decît fracționarea prin precipitare salină). Globulina antilimfocitară astfel obținută era mai puțin sau de loc contaminată cu proteine serice fără activitate de anticorpi și mai puțin imunogenă pentru om. Astfel s-a reușit o atenuare a efectelor secundare administrării serului antilimfocitar, dar o dată cu aceasta a survenit și o scădere inevitabilă a protecției împotriva respingerii grefei, în comparație cu serul nativ.

Testarea *in vitro* a globulinei antilimfocitare obținute din serul antilimfocitar trebuie să precizeze dacă activitatea anticorpică antilimfocitară a fost păstrată în timpul fracționării. În plus trebuie exclusă prezența pirogenilor sau a proteinelor serice neimunoglobulinice contaminante.

EFECTELE EXPERIMENTALE

Efectele serului antilimfocitar sau ale globulinei antilimfocitare au fost observate asupra celulelor limfoide *in vitro* și *in vivo*.

Sell (1969) a sintetizat aceste acțiuni (tabelele XV, XVI).

Toate aceste rezultate *in vitro* demonstrează un efect direct al serului antilimfocitar sau globulinelor antilimfocitare asupra limfocitelor sau o interferență directă cu funcțiile mediate de limfocite (30; 31; 4).

Serul antilimfocitar inhibă răspunsul anticorpic primar la rozătoarele injectate cu o mare varietate de antigene, avînd un efect redus asupra răspunsului secundar.

Efectul depresor asupra reacțiilor imune mediate de celule este însă mult mai intens decît acela al supraproducției de anticorpi serici.

Administrarea serului antilimfocitar sau a globulinelor antilimfocitare *în vivo* afectează primar răspunsurile imune mediate de limfocite: *1*) recunoașterea inițială a antigenului; *2*) reacțiile de tip tardiv și *3*) răs-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XV

Efectele serului antilimfocitar in vitro

Limfoaglutinare
Limfocitotoxicitate
Suprimă mobilitatea limfocitelor
Stimulează transformarea blastică
Suprimă hemoliza în agar
Determină învelirea limfocitelor
Leagă imunoglobulinele de limfocite
Suprimă transformarea indusă cu fitohemaglutinină şi PPD *(purified protein derivative)*
Intensifică transformarea indusă de fitohemaglutinină şi PPD
Împiedică formarea rozetei specifice
Suprimă reacţiile dintre populaţiile mixte de limfocite
Intensifică replicarea virală în culturile de limfocite
Inhibă distrugerea celulelor ţintă, mediată de limfocite
Interferează cu transferul adoptiv

TABELUL XVI

Efectele serului antilimfocitar in vivo

Recunoaşterea antigenului	Suprimare a răspunsului anticorpic primar Suprimare a testului de transfer al limfocitelor normale Suprimare a reacţiei grefei împotriva gazdei Suprimare a celulelor formatoare de hemoliză
Manifestări ale hipersensibilităţii celulare	Suprimare a reacţiilor cutanate întîrziate Suprimare a inducerii de encefalomielite alergice, experimentale şi tiroidite* Inhibare a vaccinărilor* Suprimare a artritelor prin adjuvant* Protecţie împotriva virusului coriomeningitei limfocitare* Prelungire a supravieţuirii alogrefelor Inhibare a formării granulomului de *Schistosoma*
Răspuns secundar	Suprimare a răspunsului anticorpic secundar Prelungire a alogrefelor setului secund

* Aceste efecte îmbină probabil recunoaşterea cu fazele efectoare ale sensibilităţii întîrziate.

punsurile imune secundare, deşi ultimele (memoria imunologică) sînt mult mai refractare la modificările produse de serul antilimfocitar decît reacţiile primare. Serul antilimfocitar inhibă probabil diferenţierea celulelor producătoare de anticorpi inhibînd un precursor al celulelor plasmatice, dar nu afectează producerea anticorpilor de către celulele plasmatice care sînt deja diferenţiate. Reacţiile mediate de anticorpi, cum ar fi anafilaxia cutanată pasivă sau fenomenul Arthus, nu sînt inhibate (7; 9; 10; 19; 34).

Scanned with OKEN Scanner

EFECTELE GLOBULINEI ANTILIMFOCITARE LA OM

Globulina antilimfocitară este un puternic agent imunosupresiv în situații experimentale, dar există puține date interpretabile cu privire la efectele sale la om, întrucît a fost administrată destul de rar în clinică.

Fracțiunea purtătoare a activității antilimfocitare a globulinei antilimfocitare este imunoglobulina *G* (7 S). În sînul acestei clase trebuie diferențiate moleculele de imunoglobuline *G* anticorpice și altele fără efect antilimfocitar. Chiar imunoglobulinele *G* anticorpice constituie o populație moleculară eterogenă în ceea ce privește aviditatea și capacitatea fiecărei molecule de a-și exercita efectul antiinflamator. Prin marcarea antiglobulinelor *G* anticorpice cu I^{131} s-a putut evalua la 1—5 milioane numărul moleculelor captate de un limfocit.

Porțiunea $F\ (ab')_2$ din molecula imunoglobulinelor *G* obținută prin digestie cu pepsină conține ambele situsuri de combinare ale anticorpului, dar nu fixează complementul. Ea aglutinează limfocitele umane, stimulează captarea de uridină și timidină de către limfocitele din cultură, dar nefixînd complementul nu are activitate citolitică (49). Deși, după unele indicii, fragmentul $F(ab')_2$ provenind din imunoglobulina *G* anticorpică antilimfocitară pare să aibă un efect imunosupresiv cînd este administrat în doze mari, e mai probabil ca de acest efect să fie răspunzătoare molecula integrală de anticorp care contaminează preparatul.

Fragmentele *Fab'* monovalente obținute prin reducerea $F(ab')_2$ cu cisteină s-au dovedit inactive în toate testele efectuate *in vitro*.

La om, globulina antilimfocitară suprimă reacțiile cutanate întîrziate, afectînd astfel hipersensibilitatea celulară, și prelungește supraviețuirea alogrefelor cutanate la voluntari umani și primate.

Efectele administrării globulinei antilimfocitare în ce privește supraviețuirea grefelor renale sînt mai greu de evaluat. Starzl și colab. (43), precum și Pirofsky și colab. (33), au raportat o supraviețuire mai bună a grefelor renale la primitorii tratați cu globulină antilimfocitară față de cazurile anterioare care nu o primiseră.

Totuși, autorii recunosc că grupul tratat cu globulină antilimfocitară a beneficiat de asemenea de tehnici mai avansate și de experiența mai mare a chirurgilor, comparativ cu primele cazuri. Este vorba de: *1*) o mai bună selecție a primitorului, și din punctul de vedere al histocompatibilității, și al bolii primare care a dus la insuficiență renală; *2*) o mai bună mînuire a organului donat; *3*) o pregătire preoperatoare mai bună (dializă etc.); 4) tehnici chirurgicale perfecționate; 5) un tratament postoperator mai bun; *6*) o mai bună protejare a bolnavului împotriva reacțiilor de respingere și infecții și 7) o mai mică tendință de a utiliza excesiv droguri imunosupresive convenționale, care aveau drept consecință înmulțirea complicațiilor infecțioase.

Globulina antilimfocitară a mai fost folosită în multe din recentele transplante cardiace la om, dar nu i s-a evaluat eficacitatea. Similar a fost folosită în operațiile recente de transplante hepatice (42).

Scanned with OKEN Scanner

Se explorează posibilitatea de a folosi globulina antilimfocitară la bolnavii cu afecțiuni severe, cu o patogenie posibil autoimună, în special în cele de tipul mediat de celule și în anumite tipuri de leucemie, dar n-au fost comunicate încă rezultatele unor astfel de experimente.

MECANISMELE DE ACȚIUNE

Mecanismele de acțiune ale serului sau globulinei antilimfocitare sînt neclare și de domeniul ipotezelor. Tabelul XVII (după Sell, 1969) prezintă mecanismele posibile de acțiune.

TABELUL XVII

Mecanismele posibile ale acțiunii anticorpilor antilimfocitari

Limfocitotoxicitate — limfopenie
Mascare a receptorilor antigenici ai limfocitelor *(blind-folding)*
Activare sterilă
Inactivare a factorului timic limfocitar
Competiție antigenică
Învelire a organului-țintă

Efectul cel mai evident al serului sau globulinei antilimfocitare, după administrarea *in vivo*, constă în acțiunea directă citotoxică asupra limfocitelor, cu limfopenie. Limfopenia indusă de serul antilimfocitar e de obicei asociată cu suprimarea reactivității imune. Totuși, în unele situații, serul antilimfocitar alterează răspunsurile imune, pînă și în cazurile în care numărul leucocitelor periferice e normal sau chiar crescut. Această discrepanță dintre numărul limfocitelor și reactivitatea imună ar putea fi explicată printr-un efect selectiv citotoxic al serului antilimfocitar numai asupra limfocitelor mici, cu viață lungă, recirculate, care par a fi celulele imunologice specific reactive în recunoașterea antigenului.

După tratamentul cu ser antilimfocitar sau globulină antilimfocitară marcate cu iod s-a constatat legarea imunoglobulinelor radioactive de către limfocite și învelirea limfocitelor cu imunoglobuline marcate fluorescent. Aceste date sugerează că serul antilimfocitar sau globulina antilimfocitară acționează învelind receptorii antigenici ai limfocitelor *(blindfolding)*, împiedicînd astfel recunoașterea antigenului și, implicit, inițierea răspunsului imun respectiv.

Totuși, efectul imunosupresiv al serului antilimfocitar continuă și după metabolizarea imunoglobulinelor acestui ser. Efectul serului antilimfocitar asupra celulelor limfoide persistă timp de cel puțin o diviziune celulară—progenii celulelor limfatice inactivate de serul antilimfocitar sînt ei înșiși inactivi.

S-a observat că serul sau globulina antilimfocitară stimulează proliferarea *in vitro* și *in vivo* a limfocitelor întocmai ca PHA. Ele devin

incapabile să recunoască antigenul și deci să inițieze fenomenul de respingere a grefei (activare sterilă).

Preparatele de $F(ab')_2$ prezintă însă o activitate imunosupresivă mică, deși induc proliferarea limfocitelor *in vitro*. Această stimulare e inhibată cînd se adaugă la sistem complement sau cînd concentrația de ser antilimfocitar e mare. În aceste condiții apare liza limfocitelor.

Același fenomen ar putea apărea *in vivo*, unde concentrația locală a serului antilimfocitar și a complementului ar dicta balanța dintre stimularea și liza țesutului limfatic. Aceasta explică de ce, în unele experiențe, serul antilimfocitar are efect litic (scade numărul limfocitelor), iar în altele stimulează proliferarea, transformarea blastică a limfocitelor și hipertrofia țesutului limfatic.

Faptul că timectomia potențează efectele serului antilimfocitar a condus la o speculație, și anume că el ar putea inactiva un factor timic necesar pentru funcția proprie a limfocitelor imunologic reactive, împiedicînd reacția acestui factor timic umoral cu limfocitele prin blocarea locurilor de recunoaștere ale antigenului de pe limfocite („orbirea" factorului timic).

Dovezi recente sugerează că serul antilimfocitar își exercită efectele asupra limfocitelor periferice circulante (27), probabil timicdependente, și că administrarea sa cronică poate altera capacitatea timusului de a repopula animalul imunologic deficient.

Faptul că serul sau globulina antilimfocitară e un imunogen mai puternic decît serul sau imunoglobulinele normale a dus la ideea că serul antilimfocitar poate polariza reactivitatea imunologică spre sine, îndepărtînd-o de alți imunogeni prezenți la individul dat, în același timp (competiție antigenică). Totuși, în situații prea numeroase pentru a le cita, suprimarea reactivității imunologice are loc *in vivo*, în absența oricărui răspuns imun demonstrabil la serul sau la globulina antilimfocitară, iar efectul imunosupresiv al serului antilimfocitar pare a fi prelungit la animalele făcute tolerante la γ-globulina speciei pe care a fost obținut serul antilimfocitar (19).

Guttman și colab. (17) au constatat că serul lor antilimfocitar reacționa cu țesutul renal și că tratînd un donator de rinichi cu ser antilimfocitar se poate prelungi supraviețuirea grefei la primitorii netratați. Ei susțin că unii anticorpi din serul antilimfocitar ar putea reacționa încrucișat cu organul grefat, învelindu-l și blocîndu-i recunoașterea imunologică a antigenelor străine (învelirea organului țintă).

Nici una din aceste teorii nu explică pe deplin rezultatele experimentale. Probabil că un mecanism poate funcționa într-o situație și altul într-o situație diferită sau că mai multe mecanisme sînt operative în același timp.

S-a mai observat de asemenea că există antigene comune între limfocite și celulele celorlalte țesuturi ale organismului.

Faptul că țesutul de citotoxicitate limfocitară poate fi folosit la tiparea țesuturilor arată că antigenele alogenice de histocompatibilitate ale leucocitelor sînt prezente și în alte țesuturi. Se poate obține ser cu

Scanned with OKEN Scanner

efecte antilimfocitare folosind, la imunizare, celule epidermice, fibroblaşti, culturi de celule *L* etc. (13). Totuşi, în timp ce limfocitele pot avea antigene comune cu celulele din alte ţesuturi, nu este clar dacă şi anticorpii la aceste antigene comune sînt importanţi în generarea efectelor imunosupresive ale serului antilimfocitar. În orice caz, modul cel mai adecvat de a obţine un antiser care să afecteze funcţiile limfocitelor constă în imunizarea cu ţesut limfoid sau cu unele fracţiuni ale ţesutului limfoid.

Este clar că serul sau globulina antilimfocitară acţionează în mod special asupra răspunsurilor mediate de celule şi influenţează mai puţin răspunsurile prin anticorpi umorali (27). Se ştie că anticorpii umorali au importanţă în producerea leziunilor tardive, îndeosebi a acelora care afectează pereţii sanguini în alografele renale (35). Există deci posibilitatea ca globulina antilimfocitară să poată permite acceptarea precoce a alografei, dar nu o protejează total de aceste modificări patologice tardive.

ADMINISTRAREA GLOBULINEI ANTILIMFOCITARE

Rezultatele experimentale arată că cele mai bune efecte supresive sînt obţinute administrînd doze relativ mari de ser sau globulină antilimfocitară înaintea sau în timpul expunerii la antigen. Pînă acum, celor mai mulţi acceptori umani de grefe li s-au făcut injecţii multiple cu cantităţi relativ mici de globulină antilimfocitară, pe perioade de mai multe luni. Dozele mici şi repetate de ser antilimfocitar pot mări şansa ca primitorul să producă anticorpi antiser antilimfocitar injectat.

Înainte de administrarea serului, bolnavii trebuie interogaţi şi testaţi în ce priveşte sensibilitatea la proteinele de cal. Se vor efectua testele cutanate şi se va cerceta prezenţa precipitinelor serice antiproteine de cal. Dacă precipitinele au un titru ridicat, administrarea globulinei respective va fi oprită, folosind în continuare o globulină preparată pe altă specie animală sau încercînd desensibilizarea.

Calea de administrare a globulinei antilimfocitare la om e de obicei subcutanată sau intramusculară. Deşi e însoţită frecvent de durere şi inflamaţie locală (fenomen Arthus?), această cale e preferabilă injectării intravenoase, avînd în vedere riscul crescut al reacţiilor anafilactice sistemice sau al formării complexelor imune solubile cu efect nefrotoxic cunoscut. Totuşi, experienţele pe animale arată că la cîteva ore după administrarea unei doze mai mici subcutanate s-ar putea injecta intravenos o doză relativ mare. Este un fenomen similar injectării intravenoase la iepure a unui mare număr de *B. proteus* omoriţi, urmată frecvent de moartea animalului.

Dacă însă înainte de injecţia intravenoasă se administrează o doză mai mică subcutanat, dozele mari de antigen pot fi suportate de animal fără efecte nedorite.

Modul de administrare a serului antilimfocitar: se începe cu trei—cinci zile înainte de intervenţie, apoi se administrează zilnic, timp de două săptămîni şi jumătate, la două zile timp de două săptămîni,

Scanned with OKEN Scanner

de două ori pe săptămînă în următoarele două luni și o dată pe săptămînă în ultima lună. Cantitatea de ser pe doză variază între 1 și 5 ml, în funcție de greutatea pacientului, de titrul leuco- și hemaglutinant și precipitant, ca și de conținutul său în proteine heterologe neanticorpice.

O altă schemă propusă e „terapia fulger", cu doze foarte mari, dar pe o perioadă scurtă, care ar avea drept obiectiv o distrugere acută și completă a limfocitelor mici cu viață lungă. Imunosupresia indusă ar fi mai puternică, iar efectele secundare proprii unei administrări cronice, mult reduse.

S-a constatat experimental că e de preferat să se asocieze globulina antilimfocitară cu terapia clasică (antimetaboliți și corticoizi). În prezent, fracțiunea γ-globulinică a serului antilimfocitar e folosită la om ca un adjuvant al drogurilor imunosupresive, în speranța că ar putea fi reduse dozele periculoase cu acești agenți.

Unele date dovedesc că se obțin rezultate foarte bune folosind acești agenți asociați. De asemenea, comunicări izolate arată că serul antilimfocitar e mai puțin eficace folosit în asociere cu drogurile imunosupresive, în afară de cazul cînd administrarea serului o precedă pe a celorlalți imunosupresori (41).

Rezultatele cele mai bune se obțin administrînd ser cu cîteva zile înainte de transplantare și repetînd-o după aceea (43; 1) în asociere cu azatioprină și prednison. Pericolul administrării prelungite a globulinei antilimfocitare poate fi evitat folosind imunosupresori clasici (cortizon, antimetaboliți) după depășirea perioadei critice.

Grație utilizării globulinei antilimfocitare în transplantele renale și hepatice, mortalitatea a fost redusă la 50% în primul an.

Sînt necesare studii ulterioare, deși există deja un consens asupra asocierii „imunosupresorilor".

EVALUAREA EFECTELOR GLOBULINEI ANTILIMFOCITARE

Efectele exercitate de globulina antilimfocitară asupra omului trebuie apreciate, în primul rînd, după acțiunea ei de suprimare a reacțiilor cutanate întîrziate și prelungirea supraviețuirii alogrefelor.

În acest scop trebuie efectuate următoarele teste: imunoglobulinele serice sau nivelul anticorpilor specifici preexistenți; capacitatea de sensibilizare cu haptene de contact-dinitroclorbenzen (DNCB) sau bacilul Calmette-Guérin (BCG); capacitatea de a răspunde la antigene test standard (toxoid tetanic); capacitatea limfocitelor din sîngele periferic de a răspunde *in vitro* la agenți mitogeni nespecifici (fitohemaglutinină) și specifici (tuberculină); capacitatea limfocitelor periferice de a induce reacția împotriva gazdei la alte specii și, dacă e posibil, studii morfologice asupra țesutului limfoid.

De asemenea sînt valoroase numărarea celulelor sanguine și a reticulocitelor și detectarea anticorpilor la globulina antilimfocitară injectată. Ar mai putea fi studiate multe alte fenomene, inclusiv reacția cutanată la alergene (dacă bolnavul avea activitate reaginică), capacitatea bolna-

Scanned with OKEN Scanner

vului tratat de a răspunde la stimuli inflamatori nespecifici şi capacitatea de a induce un răspuns secundar.

Evaluarea supravieţuirii pacienţilor care au primit homografe e completată şi de alţi factori, ca: selecţia donator-primitor, pregătirea, intervenţia chirurgicală şi îngrijirea postoperatoare. În plus trebuie cunoscută histocompatibilitatea donatorului şi a primitorului, pentru a aprecia gradul imunosupresiei asupra răspunsului imun. De aceea, pentru a evalua efectul oricărei terapii imunosupresive în ce priveşte supravieţuirea alografei trebuie efectuată tiparea completă a leucocitelor donatorului şi primitorului.

EFECTELE SECUNDARE

Toxicitatea serului antilimfocitar e de două tipuri: cea inerentă administrării continue a proteinelor heterologe şi cea legată de imunosupresia cronică.

Efectele secundare administrării globulinei antilimfocitare la om au fost prezentate de Kashiwagi şi colab. (22), Starzl (42). Toţi bolnavii au febră, dureri, eritem, tumefacţii la locul injecţiei. Se mai pot observa urticarie, *rash* cutanat, prurit, artralgii şi edem periorbitar. Anafilaxia sistemică poate apărea la pacienţii trataţi cu injecţii multiple de globuline antilimfocitare brute.

Boala serului sau nefrita nu par să fie factori limitativi majori ai folosirii serului: la 11 din 12 biopsii din homografe renale umane de la pacienţi care primiseră ser antilimfocitar nu au fost decelate, prin imunofluorescenţă, proteine de cal şi nici alte semne de nefrită prin proteine străine. Totuşi, examenele de toxicitate efectuate pe cîine au indicat modificări anatomice în glomeruli, fără modificări ale testelor funcţionale renale.

Efectele secundare au fost mult reduse folosind globuline antilimfocitare purificate şi scurtînd seriile de injecţii.

Ar fi util să se prepare globuline antilimfocitare pe diferite specii animale, astfel încît, cînd apar efecte secundare sau anticorpi demonstrabili la primitor, după administrarea globulinelor antilimfocitare de la o specie (de exemplu, de cal), să poată fi instituit tratamentul cu globuline antilimfocitare preparate pe altă specie (capră), cu efecte secundare reduse.

Trebuie înlăturată, înainte de a administra omului globuline antilimfocitare, orice activitate de anticorpi antieritrocite, antitrombocite sau proteine serice (unele preparate de ser antilimfocitar pot afecta direct celulele hematopoetice, producînd o anemie aplastică).

Interesant este faptul că anticorpii precipitanţi cei mai uşor detectabili erau împotriva globulinelor α şi β prezente în cantităţi mici în globulina antilimfocitară, şi mult mai rar împotriva imunoglobulinei G heterologe — partea biologic activă a globulinei antilimfocitare. Ar reieşi de aici că purificarea globulinei antilimfocitare va duce la diminuarea efectelor secundare (44; 8; 20).

Scanned with OKEN Scanner

Anticorpii responsabili de activitate antieritrocitară sînt imunoglobulinele *M* (19 S), în timp ce anticorpii responsabili de activitate antilimfocitară sînt imunoglobulinele *G* (7 S). Hemolizinele şi leucoaglutininele prezente într-o globulină antilimfocitară dată pot fi complet separate prin gel-filtrare pe Selphadex G. 200. În plus, globulinele antilimfocitare purificate pe DEAE-celuloză au o activitate antieritrocitară foarte mică sau absentă.

De aceea, printr-o purificare corespunzătoare a globulinelor antilimfocitare, asociată cu o selecţie raţională a speciilor, şi prin prepararea limfocitelor pentru imunizare s-ar obţine o globulină antilimfocitară relativ specifică, dispărînd efectele secundare atribuite în mod curent anticorpilor contaminanţi în globulina antilimfocitară, anti alte elemente sanguine decît limfocite.

Printre efectele secundare tardive se numără cele care ţin de slăbirea apărării împotriva agenţilor infecţioşi comuni tuturor terapiilor imunosupresive. Deşi actualmente numărul cazurilor e mic, incidenţa limforeticulozelor maligne e deosebit de mare la bolnavii care au primit globulină antilimfocitară xenogenică. Există cîteva comunicări privind apariţia şi dezvoltarea unui sarcom reticulocelular la locul injectării globulinei antilimfocitare, la bolnavii cu transplante renale (12).

Serul antilimfocitar stimulează replicarea virală, potenţînd infecţiile latente şi promovează oncogeneza virală (5; 28).

Administrarea cronică a serului antilimfocitar la şoarece are ca rezultat o pierdere a ţesutului limfoid şi un sindrom cronic de caşectizare *(wasting)*. De asemenea, tumorile provocate cu metilcolantren apar mai uşor la şoarecii timectomizaţi sau trataţi cu ser antilimfocitar (5). Aceste efecte nu au fost întîlnite la om.

În concluzie, serul sau globulina antilimfocitară s-au dovedit a fi cei mai puternici agenţi imunosupresivi pentru toate speciile (şoarece, şobolan, cobai şi cîine) şi organele testate (piele, rinichi, ficat şi cord). Rezultatele obţinute la om sînt promiţătoare, dar nu concludente. Globulina antilimfocitară e eficace pentru suprimarea reacţiilor cutanate întîrziate şi supravieţuirea prelungită a alogrefelor.

Pare să aibă efectul de a scădea frecvenţa şi intensitatea crizelor de respingere în cursul primelor trei luni. În rest nu pare să modifice istoria naturală a transplantului.

Serul sau globulina antilimfocitară par să afecteze: *1*) recunoaşterea iniţială a antigenului de către celulele imunologic competente; *2*) hipersensibilitatea întîrziată; *3*) inducerea răspunsului secundar la antigene (memoria imunologică) şi *4*) producerea anticorpilor circulanţi, probabil afectînd precursorii celulelor plasmatice, formatoare de anticorpi, şi reacţiile imune mediate de anticorpii circulanţi preformaţi sau inflamaţia datorită iniţierii nespecifice.

Sînt necesare îndeosebi experienţe clinice şi studii *in vitro* asupra serului antilimfocitar, pentru ameliorarea efectelor sale terapeutice.

Factorii care trebuie studiaţi sînt următorii: prepararea antigenului, alegerea schemelor de imunizare, a speciilor folosite pentru producerea serului antilimfocitar, testarea *in vitro* a activităţii sale, purificarea glo-

Scanned with OKEN Scanner

bulinei antilimfocitare din serul antilimfocitar, administrarea globulinei antilimfocitare (doze, cale de administrare, relații temporale cu grefarea și efectul asocierii cu alte mijloace imunosupresive), aprecierea efectelor globulinei antilimfocitare asupra funcțiilor imunologice ale primitorului și metode de a reduce efectele secundare provocate de administrarea globulinei antilimfocitare.

Datele experimentale obținute constituie un ghid important pentru aprofundarea acestor factori, dar mai sînt necesare cercetări pentru ca globulina antilimfocitară să fie folosită în clinică pe baze cu adevărat științifice.

BIBLIOGRAFIE

1. *Atai M., Kelly W. D.* (1967) — Prolongation of survival of canine kidney allografts with antilymphocyte serum. *Surg. Gynec. Obstet.*, 125 : 13.
2. *Bach J. F., Dormont J.* (1969) — Les serums antilymphocytes. *Gazette Méd. de France*, 76 : 4 033.
3. *Bach J. G., Antoine B.* (1968) — *In vitro* detection of immunosuppressive activity of antilymphocyte sera. *Nature*, 217 : 658.
4. *Bach J. F.* (1971) — Further developments of the roset inhibition test for the testing of antihuman lymphocytes serum. *Transplantation*, 11 : 96.
5. *Balner H., Dersjant H.* (1969) — Increased oncogenic effect of methylcholanthrene after treatment with antilymphocyte serum. *Nature*, 224, p. 376.
6. *Barth R. F., Southworth Joanne* (1968) — Studies on heterologous antilymphocyte and antithymocyte sera. II. Effect on cellular antibody production during the early primary and secondary immune response of mice to sheep erythrocytes. *The J. of Immun.*, 101 : 1 283.
8. *Carraz M.* (1970) — Advantages of highly purified antilymphocyte globulin. *Laval méd.*, 41, 243.
9. *Demeester T. R., Anderson N. D., Shaffer C. F.* (1968) — The effect of heterologous antilymphocyte serum on mouse hemopoietic stem cells. *J. of Exper. Med.*, 127 : 731.
10. *Denman A. M., Denman E., Embling P. H.* (1968) — Changes in the life-span of circulating small lymphocytes in mice after treatment with antilymphocyte globulin. *Lancet*, 7 538 : 321.
11. *Denman A. M., Frenkel E. P.* (1968) — Mode of action of antilymphocyte globulin. I. The distribution of rabbit antilymphocyte globulin injected into rats and mice. II. Changes in the lymphoid cell population in rats treated with antilymphocyte globulin. *Immunology*, 14: 107.
12. *Deodhar S. D., Kuklinca A. G., Vidt D. G., Robertson A. L., Hazard J. B. (1969)* — Development of reticulum-cell sarcoma at the site of antilymphocyte globulin injection in a patient with renal transplant. *New Engl. J. Med.*, 280: 1 104.
13. *Field E. O., Gibbs J. E.* (1968) — Cross reaction of antilymphocyte serum with hematopoietic stem cell. *Nature*, 217: 501.
14. *Gill P. G., Gotjamanos T.* (1969) — Antilymphocyte serum and the reticulo-endotelial system. *Lancet*, II, 7 621, 645.
15. *Gill P. G., Venables W., Ludbrook J.* (1971) — Prediction of immunosuppressive potency of antilymphocyte serum by *in vitro* testing. *The J. of Immunol.*, 107: 1, 244.
16. *Gray J. G., Monaco A. C., Wood M. L., Russel P. S.* (1966) — Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice. I. *In vitro* and *in vivo* properties. *J. Immun.*, 96: 217.

Scanned with OKEN Scanner

40. *Sheogren J. N., Barth R. F., Edelin J. B., Molmgren R. A.* (1969) — Reticulo-endothelial blokade produced by antilymphocyte serum. *Lancet*, 7 615: 297.
41. *Simmons R. L., Ozerkis A. J., Hoehn R. J.* (1968) — Antiserum to lymphocytes: interactions with chemical immunosuppressants. *Science*, 160: 1 127.
42. *Starzl E. T.* (1968) — Current concepts: Heterologous antilymphocyte globulin. *New Engl. J. of Med.*, 279: 700.
43. *Starzl T. E., Marchiorio T. L., Porter K. A., Iwasaki Y., Cerilli G. J.* (1967) — The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. *Surg. Gynec. Obstet.*, 124: 301.
44. *Starzl T. E., Groth C. G., Brettschneider L., Smith G. V., Penn I. and Kasaiwagi N.* (1969) — Perspectives in organ transplantation in the immune response and its suppression (Symposium 1968). E. Sorkin (editor). *Antibiotica and chemotherapia*, vol. 15, p. 349.
45. *Traeger J., Perrin J., Fries D. et al.* (1968) — The use of an antilymphocytic globulin in human patients: clinical results in kidney transplantation. *Lyon méd.*, 219: 307.
46. *Waksman B. H., Arbouyns S., Arnason B. G.* (1961) — The use of specific „lymphocyte" antisera to inhibit hypersensitive reactions of the „delayed" type. *J. Exp. Med.*, 114: 997.
47. *Woodruff M. F. A., Anderson N. F.* (1963) — Effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and adminisration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. *Nature (London)*, 200: 702.
48. *Woodruff M. F. A., Anderson N. F.* (1964) — The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 120: 119.
49. *Woodruff M. F. A.* (1969) — Immunosuppression by antilymphocytic serum in organ transplantation today. Symposium edited by N. A. Mitchison, J. M. Greep and J. C. M. Hattinge. Excerpta med. Found. Amsterdam Verschene.

Scanned with OKEN Scanner

5

SPLENECTOMIA — MIJLOC DE TERAPIE IMUNOSUPRESIVĂ

Splenectomia, ca metodă imunosupresivă, este studiată actualmente în corelație cu transplantele de organe și indicată în profilaxia respingerii retransplantelor (12).

Cu mult timp înainte, boli al căror mecanism patogenic s-a dovedit recent a fi — cel puțin în parte — imunologic (de exemplu, purpura trombopenică idiopatică, unele anemii hemolitice) au beneficiat de splenectomie.

Cu toate acestea, nu există date suficiente pentru a aprecia rolul splenectomiei ca mijloc imunosupresiv în atenuarea bolilor autoimune, deoarece splina, pe lîngă funcția ei imunologică, îndeplinește numeroase alte roluri, mai ales hematologice și de reglare a circulației (vezi 3).

Astfel, în imensa majoritate a cazurilor, anemia hemolitică congenitală Minkovski-Chauffard cu defect intraeritrocitar e corectată mult mai bine de splenectomie decît anemiile hemolitice autoimune, în care rezultatele sînt numai parțial pozitive (în circa 50% din cazuri). Mai mult, majoritatea autorilor susțin că splenectomia nu prelungește supraviețuirea homogrefelor primare, probă fundamentală a capacității imunosupresive a unei metode terapeutice (21; 14; 12). De aceea, splenectomia nu e utilizată ca o metodă de rutină în transplantele primare de organe. În schimb, echipa din Richmond (16) practică regulat splenectomia pentru a preveni respingerea retransplantelor secundare renale. Eficiența imunosupresivă a splenectomiei în retransplante justifică recomandarea ei în bolile autoagresive, deoarece în acestea avem de-a face cu procese primare și secundare care au debutat cu mult timp înaintea intervenției terapeutice.

Rolul imunologic al splinei. Intervenția splinei în procesele imune se datorește componentei sale limfocitare și reticulo-histio-

Scanned with OKEN Scanner

citare. Are un rol important în protecția antiinfecțioasă la mamiferele tinere și la copii (11). La păsările adulte ține locul bursei lui Fabricius (4). Macrofagele splenice intervin în preluarea antigenelor din circulație (spre deosebire de ganglionii limfatici regionali, care captează antigenele pătrunse în tegumente, mucoase, seroase). La om, splina este un loc important de formare a imunoglobulinelor, mai ales fracțiunea imunoglobulinei *M*, a anticorpilor și autoanticorpilor (evidențiați prin imunoelectroforeza sîngelui venei splenice și testări imunoserice în vena splenică comparativ cu sîngele arterial sau cu sîngele recoltat din vena cubitală) (vezi 8). Experimental, un animal iradiat, cu splina protejată, își conservă capacitatea de a forma anticorpi, iar titrul aglutininelor e identic cu al martorului neiradiat. După unii autori (Fodor și colab., 1970, citînd pe Beck, 1967), anticorpii din clasa imunoglobulinelor *M* sînt sintetizați exclusiv în splină. De fapt, modificările determinate de splenectomie (2) concordă mai mult cu o predominanță a formării splenice a imunoglobulinelor *M* decît cu existența unui loc unic de sinteză.

Ca rezervor de celule imunocompetente, splina intervine și în reacțiile imunologice celulare. În bolile de autoagresiune, ca și în respingerea organelor transplantate, acest tip de reacții imune au rolul hotărîtor, factorii umorali fiind numai adjuvanți (vezi *Partea întîi și a treia*). Limfocitele sensibilizate produse în splină au toate proprietățile imunocitelor (vezi *Partea întîi, capitolul 1*), inclusiv capacitatea de transfer al răspunsului imunologic prin transfuzarea lor la alt organism și capacitatea de a genera și reface sistemul imunocompetent al unui organism iradiat prin repopularea măduvei hematogene, a timusului etc.

Pe aceste considerente teoretice se bazează:

a) prepararea serului antilimfocitar cu ajutorul celulelor splenice. Sursa splenică e însă inferioară utilizării limfocitelor din canalul toracic, deoarece purificarea se execută mai greu, iar activitatea antiplachetară a serului antilimfocitar obținut cu celule splenice e mai mare;

b) încercarea de a transfera reactivitatea imunologică a donatorului unui organ, transplantînd receptorului splina, după iradierea prealabilă a receptorului. Metoda e riscantă, expune la numeroase complicații, între care la apariția reacției grefei împotriva gazdei (vezi *Partea întîi, capitolul 2*) și nu se folosește în clinică;

c) încercarea de a supradoza antigenul și de a obține „toleranța la doză înaltă" (Mitchison), homotransplantînd splina donatorului la receptor, o dată cu organul vital necesar, după splenectomia receptorului. Riscurile metodei îi depășesc utilitatea și eficiența. Unii autori (15) afirmă că prin această metodă prelungesc supraviețuirea transplantelor renale la cîine. În schimb, ca și la transplantarea măduvei hematogene, apare un sindrom secundar periculos (14);

d) splenectomia imunosupresivă, efectuată în transplantele de organe și în bolile autoimune, pentru suprimarea unui însemnat număr de celule imunocompetente. Se speră că în felul acesta se va obține o stare de toleranță printr-o falsă supradozare a antigenului, în legătură cu celulele imunocompetente restante (Schwarz, 1969). Această metodă e utili-

zată curent în clinică: *1*) pentru a preveni respingerea retransplantelor renale (16) și *2*) în unele boli autoimune (purpura trombocitopenică, anemia hemolitică, hepatita cronică) (toate formele după Fodor, 1970).

EFECTELE IMUNOLOGICE ALE SPLENECTOMIEI

Teoretic, splenectomia scade reactivitatea imunologică umorală și celulară a organismului. Deocamdată, gradul imunosupresiei realizate nu poate fi precizat. În bolile autoimune, lipsa unor teste imunologice adecvate de investigare a procesului celular responsabil de autoagresiune face ca eficiența splenectomiei să fie interpretată numai pe baza rezultatelor clinice, a unor considerente teoretice și a unor teste umorale puțin semnificative (autoanticorpi, imunelectroforeză etc.). Rezultatele clinice favorabile se datoresc însă, în bună parte, și celorlalte funcții splenice.

De aceea se studiază în primul rînd efectul splenectomiei asupra respingerii grefei, proces imun tipic, ușor de urmărit clinic și prin puncții bioptice *in vivo*.

La nivel umoral, splenectomia scade formarea anticorpilor la multe specii, incluzînd maimuțele (20), puii de găină (18), șobolanul (19) și omul (19; 8). Dacă splenectomia precedă injectarea antigenului, ea va determina și întîrzia atît formarea anticorpilor de tip imunoglobuline *G* (7 S) cît și *M* (19 S). Dacă se efectuează la trei zile după imunizarea intramusculară, răspunsul primar 7 S nu mai e influențat. Scăderea titrului anticorpilor în urma splenectomiei nu are loc dacă se injectează mari cantități de antigen sau antigene puternice (2). Barajul imunosupresiv realizat de splenectomie este deci ușor depășit.

Acest fenomen se observă clar studiind intervenția splinei în grefele de organe. După unii autori, splina ar putea fi considerată locul primar al răspunsului imunologic pentru transplante de organe vascularizate (16), asemenea ganglionilor limfatici regionali pentru alogrefele cutanate. Pierce și colab. (16) consideră posibil ca antigenele de histocompatibilitate care apar în efluentul venos al homotransplantelor renale să fie transportate la splină, unde să stimuleze proliferarea celulelor limfoide și formarea anticorpilor umorali. Limfocitele sensibilizate se întorc prin circulație la grefa renală și joacă rolul principal în reacția de respingere (17), în care nici intervenția anticorpilor umorali nu e exclusă (1). În orice caz, cu ocazia respingerii homotransplantelor renale a fost demonstrată clinic prezența hipersplenismului, iar la om splenectomia și timectomia reduc titrul imunoglobulinelor de tip imunoglobuline *M* care se dezvoltă după transplantare (22).

INDICAȚII ȘI REZULTATE CLINICE

A. Datele prezentate au făcut ca splenectomia să fie utilizată în clinică drept un mijloc imunosupresiv, pentru a prelungi supraviețuirea homotransplantelor renale primare și a scădea necesarul de medicamente imunosupresive citotoxice (13).

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele — controversate și greu de evaluat pe loturi de bolnavi, foarte diferiți în ceea ce privește funcția renală, dozele de corticoizi și alte imunosupresoare, bolile asociate etc. — sînt în general negative (Veith și colab., 1965, pe 10 cazuri și 23 de martori; Pierce, Hume, 1968, pe 32 de cazuri și 83 de martori grefați fără splenectomie). Experimentele pe animale sînt de asemenea negative (14).

Actualmente se consideră (12) că splenectomia nu prelungește supraviețuirea funcțională a transplantelor renale primare de la donatori vii înrudiți sau neînrudiți ori de la cadavre* (12).

În schimb, splenectomia *crește semnificativ numărul și durata supraviețuirii homotransplantelor renale secundare*, după respingerea transplantului primar (16; 14). Splenectomia efectuată în acest scop nu trebuie să preceadă transplantul primar, ci se practică la îndepărtarea grefei netolerate sau în timpul operației secundare (16). Desigur că eficiența splenectomiei asupra transplantului secundar se exercită numai dacă donatorul secundar a fost ales pe baza testelor de histocompatibilitate leucocitară (9), iar receptorul nu are anticorpi preformați care să determine o reacție hiperacută de respingere (12). Dacă după îndepărtarea primului transplant nu se efectuează splenectomia, tratamentul cu imunosupresoare trebuie continuat, altfel resturile puternic antigenice ale primei grefe provoacă în continuare hipertrofia și regenerarea foliculilor limfatici splenici, iar splina astfel sensibilizată reacționează violent la al doilea transplant, chiar dacă acesta e slab antigenic, determinînd respingerea (16).

Există și contraargumente ale splenectomiei în cursul unui transplant primar. Splenectomia provoacă în 25% din cazuri o leucocitoză secundară, cu limfocitoză și monocitoză absolută și relativă și neutropenie relativă și absolută (Crosby, 1963). Numărul trombocitelor crește, persistînd luni de zile; în 50% din cazuri, trombocitoza e persistentă. Fenomenele trombo-embolice (Hume, 1966, citat de 16) și infecțiile (11) sînt deci mai frecvente la splenectomizați. În schimb, nu există date care să ateste că asocierea splenectomiei la restul terapiei imunosupresive ar micșora dozele necesare de citotoxice sau ar mări toleranța organismului (21).

În bolile autoimune, splenectomia a fost utilizată cu mult succes încă înainte de a se cunoaște natura lor autoagresivă, în unele hemopatii (anemie hemolitică, purpură trombocitopenică idiopatică etc.) și în hepatita cronică (unde, după Fodor (1970) e utilă în toate cazurile); alți autori o recomandă însă numai pentru corectarea unui hipersplenism sau pentru scăderea hipertensiunii portale, deci indicații neimunologice.

Indicațiile splenectomiei se bazează, în primul rînd, pe modificările hematologice favorabile și scăderea hipertensiunii portale, consecutive operației. Consecințele imunologice ale splenectomiei și mai ales core-

* Gleason și Murray (1967) afirmă că splenectomia efectuată înainte de transplantul primar renal crește proporția rinichilor care funcționează de la început și-și mențin funcția în primele șase luni. Datele lor se bazează însă pe studiul unor cazuri operate de echipe diferite, cu succese și protocoale diferite (10).

Scanned with OKEN Scanner

lația ei cu starea clinică au fost mai puțin studiate. Există date suficiente pentru a explica efectele hematologice ale splenectomiei, prin ipoteze independente de rolul ei în imunitate. Astfel s-a susținut intervenția unui hipersplenism „medulodepresor" printr-un hormon (care nu a putut fi identificat și izolat). Mult mai argumentată este teoria „hipersplenismului local". Există în mod normal o activitate de depozitare, sechestrare și distrugere a elementelor figurate sanguine în splină, procese exagerate în diverse hemopatii în care se produc celule sanguine alterate sau modificate prin contactul cu anticorpii sau autoanticorpii. Înlăturarea splinei atenuează această stare, suprimînd zona de distrugere.

Desigur, există și argumente privind existența unui hipersplenism „imunologic", ipoteză emisă de Fodor și colab. în 1953 (vezi 8). Acești autori susțin că splina contribuie la producerea autoanticorpilor antieritrocitari și antitisulari hepatici, a proteinelor patologice (mai ales a imunoglobulinelor *M*) din procesele autoagresive hepatice. În consecință, după autorii citați, splenectomia e indicată în hipersplenism și în boli în care procesul autoimun e probabil (de exemplu, în hepatita cronică), pe considerentul rolului imunosupresiv al splenectomiei, rol incontestabil teoretic, a cărui contribuție în ce privește vindecarea bolilor autoimune nu a fost încă precizată.

În concluzie, splenectomia e utilizată cu succes în tratamentul unor boli autoimune și pentru a preveni respingerea transplantelor secundare renale. În ambele cazuri, nu se știe dacă efectele favorabile se datoresc imunosupresiei, realizate prin îndepărtarea unui număr de celule imunocompetente, sau altor mecanisme.

În alte tipuri de transplante, splenectomia e folosită ca mijloc imunosupresiv adjuvant, cu valoare neprobată, adesea expunînd la complicații suplimentare; singurele avantaje certe constau în furnizarea unor celule necesare preparării serului și globulinei antilimfocitare și în suprimarea hipersplenismului, atunci cînd există.

În bolile în care splenectomia duce la remisiuni clinice, mecanismul lor e mult mai complex decît ar presupune imunosupresia realizată. În hemopatii intervine și rolul splinei în distrugerea elementelor figurate sanguine; în hepatitele cronice, scăderea hipertensiunii portale etc.

Deci, ca mijloc imunosupresiv, splenectomia e o metodă adjuvantă care realizează o protecție imunologică relativ slabă. Indicațiile ei chirurgicale, ca și indicația din hipertensiunea portală, nu interesează subiectul de față.

BIBLIOGRAFIE

1. *Batchelor* — Mechanism of graft rejection. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1969, 62, 9: 953—955.
2. *Carvalho I., Borel Y., Miescher P.* — Influence of splenectomy in rats on the formation of 19 S and 7 S antibodies. *Immunology*, 1967, 12, 5: 505.
3. *Coculescu M., Coculescu Bălaşa, Rotaru M.* — Fiziologia splinei. *Spitalul*, 1969, *82*, 1: 13—20.

Scanned with OKEN Scanner

6

TIMECTOMIA

Deşi în ultimii ani s-au realizat progrese însemnate în cercetarea funcţiei timusului în ontogenia sistemului limfatic şi în imunitate, mecanismele prin care îşi exercită aceste funcţii au rămas obscure.

Interesul suscitat provine din observaţiile clinice care au dus la o adevărată redescoperire a organului. Cercetarea sistematică a timusului în bolile cu defecte imunologice demonstrate a permis identificarea a diferite tipuri de anomalii timice: aplazie, structură epitelială embrionară, prezenţa unor foliculi limfatici, centri germinativi şi plasmocite, absenţa elementelor limfoide, anomalii de migrare, infiltrare limfoidă a porţiunii medulare a glandei, tumori timice benigne sau maligne. Bolile în care s-a demonstrat una sau alta dintre aceste anomalii sînt următoarele (vezi tabelul XVIII): miastenia gravă, agammaglobulinemia dobîndită, anemia aregenerativă, sindromul Cushing, miozita, dermatomiozita, purpura hiperglobulinemică, artrita reumatoidă, sclerodermia, sindromul Sjögren, lupusul eritematos diseminat, boala Hodgkin, leucemia acută, ataxia, telangiectazia, unele cazuri de boală Addison, sindromul nefrotic (Strauss, Van der Geld, 1966; 25; 49; 6; 60; 54).

În ultima vreme se încearcă să se stabilească o legătură între unele leucemii sau limfoame şi timus, pornind de la ideea că ar putea avea un rol în controlul diviziunii normale a celulelor, blocînd dezvoltarea unor mitoze anormale şi împiedicîndu-le să dobîndească o preponderenţă faţă de cele normale.

Datele asupra structurii şi funcţiei timusului au rezultat în special din studiile experimentale pe animale, dar şi din cercetarea timusului uman.

Organ limfoid derivat din punga a III-a branhială, timusul este — după unii — de origine entodermică, iar după alţii de origine mezenchimală. În cursul evoluţiei ontogenetice, timusul suferă un proces de

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XVIII

Afecțiuni însoțite de modificări timice (cazuri cu sau fără timectomie)

Afecțiunea	*Modificări histopatologice în timus*	*Timectomie*
1. Miastenie gravă	Timom, infiltrație limfocitară medulară, centri germinativi	Da
2. Anemie aregenerativă	Timom	Da
3. Agammaglobulinemie primară dobîndită a adultului	Timom	Da
4. Anemie hemolitică autoimună	Atrofie corticală, plasmoblaști în medulară	Da
5. Purpură hiperglobulinemică	Timom	Da
6. Lupus eritematos diseminat	Timom, centri germinativi medulari, plasmocite, atrofic corticală, agregate epiteliale fuziforme în medulară	Da
7. Artrită reumatoidă	Timom, centri germinativi, proliferare de celule epiteliale	Nu
8. Miozite	Timom	Nu
9. Dermatomiozite	Timom	Nu
10. Sclerodermie	Timom, hiperplazie, foliculi și centri germinativi în medulară	Nu
11. Sindrom Sjögren	Timom	Nu
12. Sindrom Cushing	Timom	Da
13. Disgenezie reticulară	Timus epitelial fără limfocite	Nu
14. Alimfoplazie timică cu/fără agammaglobulinemie	Timus mic (1 mg—3 g), uneori necoborît în torace	Nu
15. Ataxie, telangiectazie	Absență/hipoplazie a timusului	Nu
16. Agammaglobulinemie congenitală	Timus morfologic normal (?)	Nu
17. Leucemie acută	Timom	Nu
18. Boala Hodgkin	Timus morfologic normal (?)	Nu
19. Boala Hashimoto	Timus cu centri germinativi	Nu
20. Boala Addison	Timus cu centri germinativi	Nu
21. Colită ulceroasă	Timus cu centri germinativi	Nu

coborîre în torace, în mediastinul anterior. Pe drumul migrării sale pot rămîne resturi de țesut timic, întîlnite uneori în tiroidă sau ca timus cervical.

La naștere, organul e bine dezvoltat, spre deosebire de restul țesuturilor limfoide, fiind constituit din doi lobi simetrici, drept și stîng, uniți adesea printr-un segment orizontal. Timusul e învelit într-o capsulă conjunctivă, care creează prin prelungirile sale în profunzime lobulii timici, constituiți dintr-o zonă corticală și una medulară. Greutatea timusului uman crește pînă la vîrsta de doi-trei ani, atingînd 26—37 g, și se menține la această greutate pînă la pubertate. Apoi timusul suferă un proces lent

Scanned with OKEN Scanner

de involuție pînă la vîrsta de 25 de ani, după care se transformă într-un corp gras, adesea lobulat, în interiorul căruia se mai pot găsi insule de țesut specific. La aceste modificări anatomice de involuție participă îndeosebi cortexul, medulara caracterizîndu-se printr-o remarcabilă stabilitate a greutății (9).

Microscopic, timusul e alcătuit din trei tipuri de celule: *1*) celule epiteliale, celulele de origine ale organului, situate în medulară și care în viața adultă persistă sub formă de perle epiteliale sau corpusculi Hassal; 2) aceleași celule epiteliale, în corticală, au aspect stelat și sînt dispuse în rețea (celule epitelio-reticulare); *3*) în ochiurile acestei rețele se află un tip de celule mici, cu nucleu rotund, care ocupă aproape toată citoplasma, foarte greu de diferențiat de limfocitele mici și care se numesc *timocite*. Aceste celule s-ar dezvolta, potrivit unor autori, din celulele epiteliale (4), iar după alții, din celulele mezenchimale (2; 7). Medulara are o structură mixtă, fiind alcătuită din celule epiteliale, epitelio-reticulare, și rare timocite. Cortexul timic are o structură spongioasă, alcătuită din celule epitelio-reticulare, în ochiurile căreia se află agregate de limfocite timice. Timocitele sînt mai numeroase în corticală decît în medulară. Populația limfatică nu e totuși specifică timusului, deși constituie 90% din greutatea lui, iar timocitele sînt răspunzătoare de 99% din activitatea sa mitotică. Specifice organului sînt celulele epiteliale și o parte din cele epitelio-reticulare (37).

Celulele limfatice apar în timus înainte ca astfel de celule să fi apărut în alte organe limfoide. De aceea, timusul poate fi considerat la mamifere drept sistemul limfoid primordial. S-ar putea crede că aceste celule, dezvoltate inițial aici, vor popula apoi restul sistemului limfoid.

ROLUL IMUNOLOGIC AL TIMUSULUI

Datele cele mai directe pe care le avem asupra funcției imunologice a timusului provin din cercetarea *efectelor timectomiei* asupra animalelor de laborator. În acest scop au fost folosiți șoarecele, șobolanul, hamsterul, iepurele, broasca, cîinele. În general s-a lucrat cu linii pure de șoareci, obținute prin încrucișări repetate între puii aceleiași mame. Dintre aceștia a reținut atenția în mod deosebit tulpina *NZB*, care prezintă în mod spontan un model de boală autoimună de tipul unei anemii hemolitice cu test Coombs pozitiv. Deși în cursul acestei boli se dezvoltă și o leziune timică, timectomia nu a împiedicat apariția bolii (11; 18; 20).

Efectele timectomiei sînt deosebite, după cum a fost practicată la animalul nou-născut sau la cel adult.

Timectomia la nou-născut duce la următoarele modificări:

1. Un sindrom caşectizant, cunoscut sub numele de *wasting syndrome*, caracterizat prin pierdere progresivă în greutate, diaree, dermită, frecvente complicații infecțioase care duc în final, după cel mult patru luni, la moarte. Sindromul nu survine la animalele lipsite de germeni (*germ-free*) sau dacă timectomia se practică la numai trei zile după naștere.

Scanned with OKEN Scanner

2. Scăderea limfocitelor mici ale *pool*-ului circulant și atrofia ariilor timodependente din ganglionii limfatici și splină. În contrast cu limfopenia, în țesuturile limfatice se produce o hiperplazie reticulo-endotelială care maschează scăderea numărului de limfocite (38). Concomitent are loc o proliferare intensă a seriei eritroide și mieloide în splina acestor animale, determinînd o splenomegalie.

Foliculii limfatici, plasmocitele și centrii germinativi sînt puțin afectați de timectomie, deși manifestă tendința de a deveni mai mici și mai puțin activi (49).

Aceste date arată că cel puțin o parte din limfocitele mici ale *pool*-ului circulant și ale ariilor timodependente reprezintă o clasă de celule a căror dezvoltare și stabilitate depind de funcția normală a timusului.

3. Ca urmare a scăderii limfocitelor mici dotate cu competență imunologică, timectomia afectează reacțiile imune mediate de celule.

Animalele timectomizate sînt incapabile să respingă homografele de piele, nu numai pe cele fără diferențe majore de histocompatibilitate de tip *H-2*, ci chiar pe acelea la care aceste diferențe există. De asemenea, ele sînt incapabile să respingă chiar grefe provenind de la alte specii, grefa rămînînd intactă, iar părul de pe ea prezentînd o creștere luxuriantă. Din același motiv, grefele alogenice de tumori (carcinom mamar, carcinom de col uterin uman, tumori cu mastocite) sînt capabile să se fixeze la șoarecele timectomizat la naștere. De asemenea, suspensiile de celule din țesuturile limfoide provenind de la un animal timectomizat la naștere sînt mult mai puțin eficace în ce privește provocarea unei reacții de grefă împotriva gazdei după inoculare la receptor, în comparație cu un număr egal de celule provenind de la un donator normal (27; 26).

Dimpotrivă, timectomia la naștere afectează puțin reacțiile mediate de anticorpii umorali. S-a precizat actualmente că răspunsul anticorpic la animalele timectomizate la naștere e variabil și depinde de specie, natura antigenului folosit, momentul imunizării, vîrsta la care s-a practicat intervenția, timpul scurs de la imunizare pînă la testarea răspunsului imun. Timectomia la naștere nu pare să aibă un efect semnificativ asupra cantității de imunoglobuline sau a tipului de imunoglobuline produs (31; 5; 3; 19).

Prezintă un interes deosebit faptul că, la păsări, timectomia nu are nici un efect asupra producerii de anticorpi circulanți, în timp ce extirparea bursei lui Fabricius provoacă împuținarea plasmocitelor, atrofia foliculilor limfatici, a centrilor germinativi și o importantă scădere a răspunsului anticorpic.

Această observație pledează pentru existența a două sisteme limfoide distincte: unul timodependent, responsabil de imunitatea celulară, și altul bursodependent, responsabil de imunitatea umorală.

Timectomia la animalele adulte produce o limfopenie mai mică decît la nou-născut, dar nu provoacă nici o modificare în țesutul limfatic periferic. Deficitul imunologic devine aparent numai cînd limfocitele mici periferice au scăzut suficient de mult, ca rezultat al unei durate medii de viață scurtate. De aceea timectomia nu determină defecte imuno-

Scanned with OKEN Scanner

logice imediate, ci îndepărtate. Celulele limfatice de la adulții timectomizați au o capacitate redusă de a produce reacția grefei împotriva gazdei (66; 67).

Deci, în ciuda concepțiilor clasice, timusul continuă să influențeze și la adult dezvoltarea unei populații de celule imunologic competente cu viață lungă, probabil limfocite mici ale *pool*-ului circulant. De altfel, chiar mitozele din timusul adult sînt mai active în comparație cu cele din țesutul limfatic periferic.

La șoarecii adulți timectomizați și iradiați letal sau tratați cu agenți imunosupresivi s-a demonstrat că timusul adult asigură refacerea funcțiilor imunitare. În absența timusului, folosind celule hematopoetice medulare sau din ficatul fetal nu s-a putut dobîndi competența imunologică, deoarece limfocitele circulante nu se refăceau, iar animalele mureau la 30—60 de zile după iradiere.

Dimpotrivă, animalele iradiate letal și cărora li se practică o timectomie fantomă pot fi recuperate imunologic după trei-patru săptămîni.

La aceste animale, numărul limfocitelor periferice devine aproape normal la 50—70 de zile după iradiere (49; 47; 46; 28). Efectele timectomiei demonstrează că timusul este esențial în procesul de dezvoltare a sistemului limfatic și în acela de constituire a capacității de răspuns imunologic (46).

Restabilirea animalelor timectomizate e posibilă folosind suspensii de celule limfoide din ganglionii limfatici, splină, canalul toracic, grefe de timus, implante de timus plasate în camere de difuziune melipore, extracte timice, cu condiția ca toate acestea să fie administrate înainte de săptămîna a patra.

Celulele medulare și hepatice fetale nu sînt apte să refacă animalele timectomizate din punct de vedere imunologic. Timocitele se comportă într-un mod similar celulelor medulare, deși uneori, injectate în număr foarte mare, pot reface animalele din punct de vedere imunologic (17).

Grefele de timus provenind de la nou-născut, implantate subcutanat sau sub capsula renală, corectează atît limfopenia, cît și defectele imunologice. Este foarte probabil ca acțiunea acestor grefe să constea în producerea unui factor umoral timic cu efect stimulant asupra celulelor limfoide ale gazdei. În favoarea existenței sale pledează efectul extractelor timice acelulare, care la animalul timectomizat refac capacitatea imunologică, induc limfopoeza, cresc încorporarea de H_3-timidină în acid dezoxiribonucleic *in vivo* și sinteza de acid ribonucleic și acid dezoxiribonucleic *in vitro* (48).

L i m f o p o e z a t i m i c ă. Lucrările experimentale ale lui Auerbach (4) au demonstrat că, cel puțin în viața embrionară și imediat după naștere, celulele epiteliale pot fi sursa limfoblaștilor timici din care apar limfocitele mici timice. Incapacitatea suspensiilor de celule timice de a repopula timusul iradiat denotă că timocitele nu posedă o capacitate de proliferare indefinită în timus sau că nici nu se pot dediferenția pentru a începe să prolifereze. Timusul are deci un număr limitat de celule-tulpină care dispar în timpul procesului de proliferare intensă.

Scanned with OKEN Scanner

În perioada postnatală și mai ales la adulți, timocitele nu mai provin din celule epiteliale, ci din celule sechestrate din circulație (48; 49).

Ideea sechestrării unor celule din circulație s-a născut tot în urma unor observații experimentale. Astfel, după o scurtă perioadă de diviziune, celulele limfoide din grefele de timus sînt înlocuite cu celule ale gazdei, recunoscute în metafază prin prezența *marker*-ului cromozomial T_6. Pe de altă parte, la animalele iradiate letal, timusul e repopulat prin suspensii celulare din măduvă, nu însă de suspensii celulare provenite din timus. Originea acestor celule imigrate și sechestrate în timus nu e cunoscută precis. Ele reprezintă 75% din populația de celule-tulpină, restul de 25% fiind de origine intrinsecă, fie celule epiteliale, fie limfocite mici timice.

Populația de limfocite mici timice nu e omogenă, limfocitele mici corticale și medulare avînd însușiri diferite.

Limfocitele mici corticale nu au o organizare foliculară și nici centri germinativi. Însușirile lor au fost menționate în *Partea întîi, capitolul 1.*

Limfocitele mici medulare se deosebesc de cele corticale prin faptul că au o activitate mitotică mai redusă sau nulă, sînt mai puțin sensibile la raze X și cortizon și răspund la stimularea antigenică. Ele seamănă morfologic cu limfocitele mici „recirculate" și ar putea să reprezinte o parte din *pool*-ul de limfocite mici periferice, cu viață lungă.

Aceste diferențe arată că ar fi vorba de două tipuri celulare distincte sau că limfocitele mici medulare reprezintă o formă matură a celor corticale.

Injectînd intratimic timidină-H_3 s-a constatat că 95% din populația de limfocite mici timice a fost marcată în patru zile, restul de 5% putînd avea o viață mai lungă.

Marea frecvență a mitozelor și producția extrem de ridicată de timocite de către cortexul timic (2 milioane/oră) dovedesc că proliferarea timocitelor întrece nivelul necesar pentru a explica simpla creștere în greutate a timusului.

Posibilitatea migrării unor limfocite mici din timus, pentru a popula alte organe limfoide, sugerată de Miller, a fost demonstrată prin numeroase observații experimentale. Acest curent celular eferent e mai intens la animalul nou-născut decît la adulți. Puținele celule care migrează în afara timusului ar putea constitui cele 5% din populația timusului cu viață mai lungă de patru zile. Ele ar reprezenta contribuția timusului la *pool*-ul de limfocite mici circulante (fig. 10).

Cum majoritatea limfocitelor mici timice nu părăsesc timusul, producția rapidă e compensată de o distrugere intensă în organ. Există dovezi că majoritatea limfocitelor mici mor în timus după o viață de trei-patru zile. Aceste celule ar funcționa ca trefocite, punînd la dispoziția celulelor nou formate acid dezoxiribonucleic și probabil alți factori nutritivi. Marcînd limfocite cu H_3-timidină, s-a observat că un material marcat, de natură neprecizată, poate fi integrat în celulele care sintetizează acidul dezoxiribonucleic, cum ar fi fibroblaștii, celulele de ascită tumorală, celulele hepatice. Scăderea în greutate consecutivă timectomiei la naștere ar putea fi și ea în legătură cu suprimarea acestei funcții trofice a timusului.

Scanned with OKEN Scanner

Metcalf (1964) a efectuat în acest sens cîteva experienţe elegante şi convingătoare. Pornind de la constatarea că mici fragmente de splină sau timus pot fi grefate subcutanat, el a executat aceeaşi operaţie cu un amestec de mici fragmente de splină şi timus, obţinînd o grefă hibridă. În

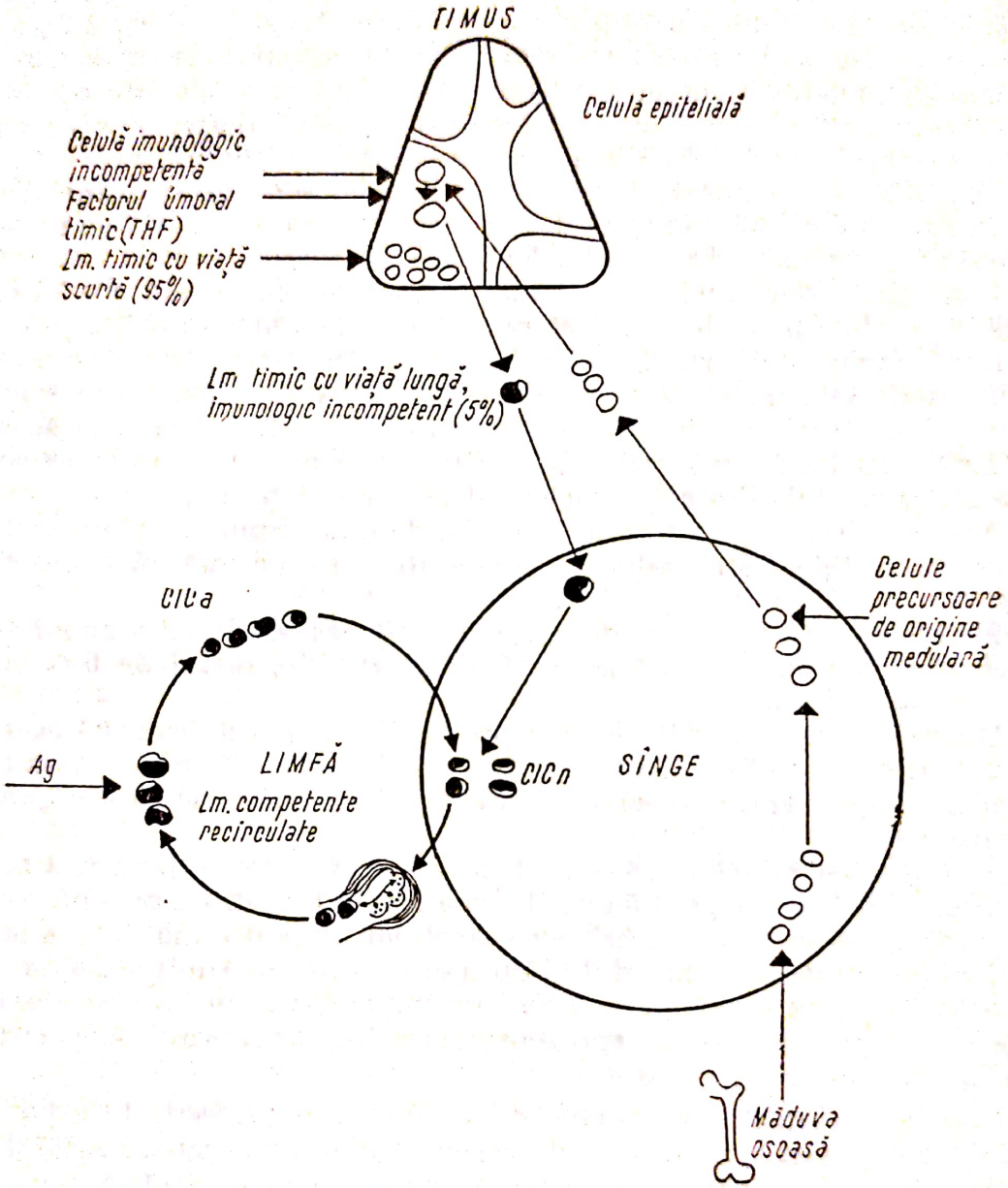


Fig. 10. Contribuţia timusului la sistemul imunocompetent.
Lm=limfocit mic; CICn=celule imunologic competente neangajate; CICa=celule imunologic competente angajate.

această grefă, componenta splenică atinge o masă ceva mai mare decît dacă e grefată izolat, prin dezvoltarea elementelor nelimfoide ale splinei. Grefe hibride între splină şi alte ţesuturi au dovedit că acest efect e specific timusului.

Scanned with OKEN Scanner

Înmulțirea rapidă a celulelor limfoide timice e răspunzătoare probabil de tendința lor la transformare neoplazică. Studiind dinamica populației celulare timice se constată că diviziunea celulelor reticulare duce la formarea unor limfocite mari, din care rezultă limfocite mici prin repetate mitoze reductive. Limfocitele acestea migrează în medulară, de unde trec prin diapedeză în circulația sanguină și, într-o măsură mai mică, în cea limfatică. Una din funcțiile timusului constă deci în producerea unor limfocite care ajung în circulație.

Reglarea limfopoezei timice. Limfopoeza timică e influențată de factori intrinseci și extrinseci. Cele mai multe dovezi experimentale pledează în sensul că limfocitele mici timice proliferează în urma stimulării prin factori formați în timusul însuși. Unele observații susțin existența unui factor provenit din medulara timusului, denumit *lymphocytosis stimulating factor* (LSF) (factorul de stimulare a limfocitelor), care ar stimula celulele limfatice precursoare din interiorul timusului la o limfopoeză activă (43).

Un alt factor umoral produs de celulele epiteliale și reticulare ale timusului, denumit *competence inducing factor* (CIF) (factorul de inducere a competenței), ar determina diferențierea și maturarea celulelor precursoare din timus — insensibile la antigene și imunologic incompetente — în celule imunologic competente. Este foarte probabil ca LSF și CIF să fie unul și același factor umoral cu proprietăți diferite, care putea fi numit, prin analogie cu eritropoetina, „limfopoetină", sau cum au propus Low și colab. (1964) *a thymic humoral factor* (THF) (factorul timic umoral) (51).

În timusul șoarecelui, proliferarea limfocitelor din cortex e concentrată în jurul unor celule reticulare care conțin granule colorabile cu acid periodic Schiff (celule PAS-pozitive). Ele nu sînt altceva decît macrofage care au înglobat fragmente PAS-pozitive rezultate din celulele defecte ce apar în mod obișnuit în țesuturile cu o proliferare foarte activă (42).

Funcția endocrină a timusului e susținută și de izolarea din timusul de vițel, de către Szent Györgyi, a trei hormoni cu acțiuni diferite: promina, care stimulează dezvoltarea tumorilor maligne; retina, care inhibă dezvoltarea tumorilor, și un hormon care ar bloca maturarea sexuală (2).

Dintre factorii extrinseci stimulatori citățm: tiroxina, somatotropul hipofizar și celulele-tulpină medulare. Factorii extrinseci cunoscuți că inhibă limfopoeza timică sînt testosteronul și estrogenii.

Comportarea timusului la stimularea antigenică. Răspunsul timusului la stimularea cu antigene, rațiune de a exista pentru limfocitele din splină și ganglionii limfatici, lipsește la timocite. Injectarea parenterală a unui antigen nu face să apară în timus centri germinativi și nici nu determină dediferențierea limfocitelor mici la imunoblaști și plasmocite, așa cum se întîmplă în țesutul limfatic periferic. Însă injectarea unui antigen direct în timus e urmată de apariția plasmocitelor, de dezvoltarea unor centri germinativi și de secreția de imunoglobuline. Deoarece teoria barierei hemo-timice (41) nu mai poate fi susținută (15) și întrucît mecanismul fagocitar operează eficient în timus, mai rămîn două explicații posibile ale acestui fenomen: *1)* inhibarea

răspunsului timocitelor de către o α_2-glicoproteină, cunoscută şi sub numele de „factorul Mowbray“ (62); 2) timocitele ar putea primi un stimul proliferativ atît de puternic din partea celulelor reticulare, încît sinteza extrem de rapidă a compuşilor structurali ar împiedica activitatea unei funcţii mai specializate de a elabora reticul endoplasmic (şi deci de a secreta anticorpi) (49). Observaţiile experimentale arată totuşi că în timus există un număr redus de celule imunologic competente, însă de origine extratimică.

TIMUSUL ŞI TOLERANŢA IMUNOLOGICĂ LA SELF

O serie de observaţii clinice şi experimentale susţin existenţa unor relaţii între modificările timice şi suferinţa în care e implicat un mecanism autoimun. De aceea s-a încercat să se atribuie timusului un rol în inducerea toleranţei la antigene proprii. Este cunoscută în acest sens ipoteza „selecţiei clonale“, potrivit căreia antigenele proprii acţionează in perioada embrionară asupra celulelor precursoare din timus, selectînd clone care ar putea fi agresive asupra antigenelor proprii. Ele sînt însă distruse (s-a arătat că 95% din limfocitele timice mor după o viaţă de patru zile), dobîndindu-se în acest fel toleranţa la antigene proprii (funcţia de cenzură a timusului) (12; 10).

Şoarecele *NZB*, la care survin în mod spontan manifestări autoimune (90% din animale) şi modificări timice, a oferit condiţii experimentale ideale pentru cercetarea relaţiei timus-autoimunitate.

De un deosebit interes este constatarea că hibridul F_1 (*NZB*×*NZW*) prezintă de asemenea nefrită lupică, celule LE, test Coombs pozitiv (29).

Apariţia centrilor germinativi în timusul şoarecelui *NZB*, la 95% din animalele care au 8 luni sau mai mult în momentul instalării manifestărilor autoimune, ridică problema unei relaţii de la cauză la efect între aceste două fenomene.

Burnet (1962, 1969) consideră că aceşti centri germinativi generează tocmai „clonele interzise“, care vor produce autoanticorpii prezenţi la tipul respectiv de şoarece.

Experienţele lui Helyer şi Howie (29) duc însă la concluzia că, la şoarecele *NZB/BL*, timectomia nu previne manifestările autoimune.

Practicînd ablaţia timusului la tulpinile de şoareci nou-născuţi care prezentau spontan suferinţe autoimune (anemie hemolitică autoimună cu test Coombs pozitiv, celule LE, nefrită etc.), au observat că intervenţia nu numai că nu împiedica instalarea manifestărilor autoimune, ci părea chiar să le grăbească. Lipsa de răspuns la timectomie sugerează posibilitatea ca anomalia imunologică notată iniţial în timus (celule timice cu potenţial autoagresiv) să fie apoi diseminată la alte ţesuturi limfoide sau ca timusul să exercite asupra manifestărilor autoimune un efect inhibitor. În acest sens, şoarecii *NZB* şi pacienţii cu boli autoimune pot fi consideraţi purtătorii unui timus alterat care nu-şi exercită corect acţiunea inhibitoare asupra apariţiei unui răspuns autoimun. De altfel au fost observate anemii hemolitice autoimune la şoarecele *NZB* în absenţa le-

Scanned with OKEN Scanner

ziunilor timice sau, dimpotrivă, prezența lor fără anemie autoimună. Cu toate acestea, timusul unor șoareci cu boală autoimună, grefat unui șoarece nou-născut neaparținînd tulpinii *NZB*, poate duce la apariția unor suferințe autoagresive. Nu se știe dacă sînt răspunzătoare de aceste manifestări celulele înseși provenind din grefa timică sau dacă celulele limfatice ale gazdei care populează grefa sînt convertite aici, în urma unui stimul umoral, la celule imunologic competente cu potențial agresiv față de componentele antigenice proprii (29).

Șoarecele *NZB* timectomizat la naștere și grefat tot atunci, dar cu timus normal, continuă să prezinte aceleași manifestări autoimune, ceea ce înseamnă că activitatea clonelor celulare „autoimune" extratimice nu e împiedicată de țesutul timic normal. Nu s-a precizat dacă grefa de timus normal provoacă apariția unor centri germinativi la fel ca și timusul „autoimun".

Încă nu e clar dacă leziunea timică (dezvoltarea unor centri germinativi care sînt martorul răspunsului la stimularea antigenică) e cauza primară sau efectul secundar manifestărilor autoimune (53).

În cazul encefalomielitei, tiroiditei și aspermatogenezei autoimune experimentale, timectomia a avut un efect favorabil, probabil împiedicînd dezvoltarea acelor celule imunologic competente care mediază agresiunea imunologică.

În concluzie, funcțiile timusului legate de imunitate se pot contura în termeni destul de generali:

1. În viața embrionară, timocitele provin din celule epiteliale, iar postnatal, din celule medulare sechestrate din circulație. Din totalul timocitelor, 95% mor în timus după o viață scurtă, de patru zile. Ele sînt incompetente imunologic, iar funcția lor nu e cunoscută. Restul de 5% au o viață mai lungă, sînt probabil competente imunologic și reprezintă contribuția organului la *pool*-ul limfocitelor mici circulante. În felul acesta, timusul joacă un rol în reacțiile imune mediate de celule.

2. Proliferarea tuturor celulelor precursoare și maturarea imunologică a unora din ele au loc în timus sub acțiunea unui factor umoral timic, cu o structură încă necunoscută. Efectul acestuia se exercită numai asupra celulelor imunologic incompetente aflate în microclimatul timic, cărora le conferă competența imunologică. Celulele imunologic competente devenite extratimice proliferează ca răspuns la stimularea antigenică, nemaifiind sub influența factorului timic umoral. Deci, timusul pare să fie un loc privilegiat, unde celulele precursoare din măduva osoasă se divid mai ușor, generînd celule imunologic competente.

3. Timusul ar avea un rol în stabilirea toleranței imunologice la antigene proprii.

4. În viața adultă, timusul joacă un rol esențial în restaurarea potențialului imunologic dacă acesta a fost alterat sau suprimat de diverși agenți nocivi (de exemplu, prin radiațiile ionizante).

Scanned with OKEN Scanner

TIMECTOMIA ŞI AUTOIMUNITATEA LA OM

În bolile autoimune s-a constatat frecvent afectarea timusului: se dezvoltă centri germinativi, are loc o infiltraţie limfatică a porţiunii medulare a glandei, apar tumori benigne sau maligne.

După Burnet (1962, 1969), clonele celulare cu potenţial autoagresiv ar avea o origine timică, fiind vorba de celule mutante apărute în timus din cauza mitozelor extrem de rapide care au loc aici.

Ipoteza lui Burnet nu a fost însă demonstrată, în ciuda unor vaste lucrări experimentale.

După o altă ipoteză, în caz de sistem imun timodependent defectiv există o susceptibilitate deosebită la infecţii. Drept urmare ar apărea leziuni în sistemele celulare, însoţite de hiperplazii limforeticulare care duc, în final, la boli autoimune (49).

Deşi participarea timusului a fost implicată într-o serie de boli, relaţia dintre manifestările histopatologice locale şi aceste suferinţe a rămas încă neexplicată.

Pentru tratamentul chirurgical (timectomie) prezintă un interes deosebit miastenia gravă şi alte boli asociate cu tumori ale timusului (agammaglobulinemia dobîndită, anemia aregenerativă, sindromul Cushing).

Miastenia gravă rămîne deocamdată singura boală în care modificările histopatologice ale timusului sînt intim legate de manifestările autoimune. Deşi după timectomie survine deseori o ameliorare clinică, intervenţia nu e neapărat urmată de vindecarea bolii (52).

Histologic, timusul e normal la 15—20% din pacienţi, la ceilalţi prezentînd fie o infiltrare limfocitară cu formarea unor centri germinativi în porţiunea medulară a glandei (70% din bolnavi), fie timoame benigne sau maligne (10—15% din bolnavi) (13; 53).

Prin tehnici de imunofluorescenţă au fost evidenţiate două tipuri de autoanticorpi: primul, îndreptat atît împotriva muşchiului cardiac şi scheletic, al doilea numai împotriva muşchiului scheletic, fiind fixator de complement.

S-a raportat că serul miastenicilor conţine autoanticorpi care colorează la imunofluorescenţă atît muşchii, cît şi celulele reticulo-epiteliale ale timusului normal, dar şi autoanticorpi care reacţionează numai cu muşchii striaţi (61). Demonstrarea unui antigen comun epiteliului timic şi muşchiului striat ar putea explica infiltraţia limfocitară a muşchiului (limforagia), defect histopatologic bine cunoscut în miastenie. S-a sugerat că antigenul prezent în timus e stimulul care dă naştere centrilor germinativi observaţi în timusul bolnavilor. Se poate presupune deci că limfocitele devin sensibilizate specific în cursul dezvoltării în centrii germinativi ai timusului miastenic sub influenţa antigenelor timice şi că se localizează ulterior în muşchi graţie antigenului comun. Există o relaţie directă între prezenţa autoanticorpilor antimuşchi şi timom. N-au fost decelaţi însă anticorpi faţă de muşchii netezi (24).

Scanned with OKEN Scanner

S-a realizat experimental o „timită autoimună" imunizînd cobaiul cu timus sau mușchi de vițel în adjuvant Freund complet. Cobaiul a manifestat o hipersensibilitate întîrziată față de mușchi și timus.

La aproximativ 50% din animalele imunizate s-a constatat o „timită", o leziune caracterizată prin acumulare de limfocite în regiunea medulară, în jurul corpusculilor Hassall. Circa jumătate din aceste animale au prezentat un bloc neuro-muscular sensibil la neostigmină, evidențiat prin electromiografie. Timectomia efectuată înainte de imunizare cu timus sau mușchi nu a inhibat nici reacția de hipersensibilitate întîrziată, nici producția de anticorpi circulanți, dar a împiedicat instalarea blocului neuro-muscular demonstrabil. Din aceste observații s-a tras concluzia că reacția autoimună care se dezvoltă în timus, grație antigenelor comune menționate, determină leziuni care duc la eliberarea unei substanțe umorale cu acțiune blocantă neuro-musculară.

În miastenia gravă s-a emis ipoteza că leziunea de bază ar fi o timită autoimună, o infiltrație a medularei timice cu limfocite, celule plasmatice și apariția unor centri germinativi. Timita survine ca expresie a unei reacții autoimune. În 10% din cazuri, cauza acestei reacții pare să fie timomul, în rest nu se cunoaște etiologia, dar asocierea miasteniei cu alte boli autoimune arată că există o tulburare genetic determinată a toleranței imunologice. Leziunea produsă în timus eliberează o substanță hormonală, timina, care ar provoca blocul neuro-muscular al miasteniei (21; 22; 23). Această ipoteză nu poate explica însă cazurile care nu beneficiază de timectomie.

În dorința de a vindeca boala s-a încercat ablația chirurgicală a tumorii, întrucît s-a constatat o asociere frecventă între tumorile timice și miastenia gravă.

Prima timectomie a fost efectuată de Sauerbruch, în 1911. Serii de timectomii au fost făcute ulterior de Blalock, Keynes, Calogett și colab., Viets și Schwab (63).

La noi, miastenia a fost tratată prin timectomie de Hortolomei și colab. (30) și Juvara și colab. (33; 34).

Juvara și colab. (34) consideră timectomia indicată în următoarele situații:

1. miastenie gravă coexistînd cu o tumoare timică, chiar dacă tratamentul medical e eficient (indicație absolută);

2. bolnavi miastenici fără timus tumoral, dar la care se scurtează perioadele de remisiune sau se instalează o rezistență progresivă la drogurile anticolinesterazice; la aceștia, din cauza supradozării, există riscul complicațiilor respiratoare de tip colinergic;

3. bolnavi miastenici fără tumoare timică, la care se accentuează tulburările de deglutiție sau apar fenomene de insuficiență respiratoare progresivă.

Înainte de intervenție e necesară spitalizarea îndelungată a bolnavului, pentru a stabili „minimul necesar de prostigmină" absolut indispensabil pentru dirijarea tratamentului postoperator.

Din experiența celor 39 de cazuri operate rezultă că beneficiază de intervenție atît pacienții cu tumori, cît și cei cu hiperplazie timică. Frec-

venţa complicaţiilor postoperatoare e mai mare în cazul timusului tumoral şi în formele generalizate de miastenie.

În perioada imediat postoperatoare, pentru cazurile care răspund favorabil la timectomie trebuie reconsiderat „minimul necesar de prostigmină", pentru că, modificîndu-se reactivitatea plăcii neuro-musculare, s-ar putea ca această doză să fie mult peste necesităţi şi să apară fenomene de supradozaj (în două cazuri, la 15—20 mg prostigmină preoperator s-a ajuns după intervenţie la 3 mg).

Rezultatele postoperatoare au fost interpretate după scăderea dozei de prostigmină şi ameliorarea subiectivă. În funcţie de aceste date, în mai mult de jumătate din cazuri au fost obţinute rezultate bune şi foarte bune (34).

Ameliorarea precoce şi persistentă observată la unii pacienţi a dus la concluzia că timusul a fost, cel puţin în parte, responsabil de alterările din cursul bolii (59).

În ciuda unor cercetări intense nu se poate preciza rolul timectomiei în ameliorarea bolnavilor miastenici, deoarece sînt cunoscute frecvente remisiuni spontane.

Pentru a aprecia rezultatele timectomiei în cazurile de miastenie gravă trebuie făcută o cercetare separată pe sexe şi alta după timus hiperplazic sau tumoral. În ultima categorie, tumorile benigne vor trebui apreciate separat de cele maligne.

În concluzie, timectomia e indicată sub 40 de ani la femei cu o formă generalizată de boală, de o durată scurtă (sub 5 ani) şi care nu răspund la tratamentul medicamentos sau cu raze X. Peste 40 de ani, timectomia nu s-a dovedit utilă.

La bărbaţi, eficienţa timectomiei e problematică; ea poate avea o anumită valoare la pacienţi selectaţi, şi anume la cei cu timoame (benigne sau maligne) la care e indicată asocierea radioterapiei. Totuşi, prognosticul acestor pacienţi miastenici cu timoame rămîne sever; majoritatea mor prin miastenie, nu prin procesul tumoral. Cel mai sumbru prognostic îl au miastenicii cu tumori timice inextirpabile din pricina dificultăţilor.

Ablaţia timusului nu vindecă boala, ci, în cazurile favorabile, atenuează fenomenele miastenice, bolnavii devenind mai sensibili la drogurile anticolinesterazice.

Deşi în tratamentul miasteniei viitorul probabil că nu aparţine chirurgiei, actul chirurgical rămîne justificat cît timp putem aduce pe această cale un beneficiu bolnavului, mai ales că în prezent riscul chirurgical s-a redus (34).

Anemia aregenerativă. Din cele aproximativ 90 de cazuri comunicate, 51 de pacienţi aveau timoame, dar timectomia a dus la vindecare doar la patru. Într-un număr de cazuri, boala a reapărut la cîţiva ani după extirparea tumorii timice. La cei cu ameliorări au fost utilizate tratamente suplimentare, astfel că efectul real al timectomiei rămîne problematic.

Scanned with OKEN Scanner

În contrast cu pacienții miastenici, radioterapia locală pe timus pare lipsită de efecte utile (56; 58).

Agammaglobulinemia primară dobîndită a adultului. S-au găsit timoame la 17 pacienți cu agammaglobulinemie dobîndită, adică aproximativ 10% din bolnavii respectivi, cifră foarte mare pentru o afecțiune rară. Timectomia nu a dus la corectarea deficitului imunologic (57; 49).

În două cazuri severe de anemie hemolitică autoimună la copii, timectomia a produs o remisiune promptă. Dat fiind numărul foarte mic de cazuri, nu sînt permise generalizările, dar se presupune că ar putea fi utilă în cazurile severe cu debut în copilărie. Timusul prezenta atrofie corticală și acumulare de plasmoblaști în medulară (65; 35).

Există și cazuri de purpură hiperglobulinemică asociată cu timoame, în care timectomia a dus la remisiune (8). Waldenström (1968) citează cazul unei femei de 56 de ani timectomizată la Westminster Hospital (Londra). După extirparea timomului, care cîntărea 327 g, purpura a dispărut imediat și nu a mai reapărut în cursul unei perioade de observație de 19 luni. Sindromul Sjögren, splenomegalia și hepatomegalia concomitente nu au beneficiat însă de intervenție.

În *lupusul eritematos diseminat*, timusul prezenta diferite modificări histopatologice: timoame, centri germinativi în medulară, înmulțire a celulelor plasmatice, atrofie corticală, agregate de celule epiteliale fuziforme în medulară.

Timectomia nu a produs vreo ameliorare clinică într-un caz cu timus normal (39). Evoluția postoperatoare bună la alți pacienți poate fi atribuită continuării terapiei cu prednisolon (40). În două cazuri, timectomia practicată la bolnavi miastenici a fost urmată de instalarea unui lupus sistemic (1).

În *sindromul Cushing,* timoamele decelate erau de natură malignă. Moartea survine cu sau fără timectomie, de aceea utilitatea intervenției e problematică (59). Recent au fost comunicate cazuri de colită ulceroasă ce prezentau în timus foliculi limfatici (14).

Cunoscînd asocierea dintre bolile autoimune și timoame sau hiperplazii timice, precum și capacitatea acestor modificări timice de a antrena manifestări autoimune, rezultă că în bolile autoimune trebuie controlate cu insistență eventualele leziuni timice, pentru a putea aprecia, de la caz la caz, oportunitatea timectomiei.

Deocamdată nu dispunem de informații privind timectomia în celelalte boli autoimune cu sau fără modificări ale timusului. Există desigur și tumori timice fără semne de suferință autoimună.

În ciuda datelor acumulate în ultimii ani privind funcția imunologică a timusului și relația sa cu boala, numeroase întrebări își așteaptă răspunsul. Interesul crescînd pentru suferințele autoimune oferă perspectivele unor progrese rapide în aprofundarea funcțiilor acestui organ, în condiții normale și patologice.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

1. *Alarcon-Segovia D., Galbraith R. F., Maldonado J. E., Howard F. M. Jr.* — Systemic lupus erythematosus following thymectomy for *myasthenia gravis. Lancet*, 1963, 2, 662.
2. *Amiel J. L., Brezin C.* — La physiologie du thymus. *Presse méd.*, 1965, 73, 6, p. 281.
3. *Archer O., Pierce J. C.* — Role of thymus in development of immune response. *Fed. Proc.*, 1961, 20, p. 26.
4. *Auerbach R.* — On the function of the embryonic thymus, *in:* The Thymus-Symposium monograph, 1964, nr. 2, p. 1, V. Defendi, M. Metcolf (eds.).
5. *Azar H. A., Williams J., Takatsuri K.* — Development of plasma cells and immunoglobulins in neonatally thymectomyzed rats, *in:* The Thymus-Symposium monograph, nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
6. *Biggart J. D., Nevin N. C.* — Hyperplasia of the thymus in progressive systemic sclerosis. *J. Path. Bact.*, 93, 1, p. 334.
7. *Billingham R. E., Sivers W. K.* (1964) — Some biological differences between thymocytes and lymphoid cells, *in:* The thymus-Symposium monograph, nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
8. *Birch C. A., Cooke K. B., Drew C. E., London D. R., Mackenzie D. H.* — Hyperglobulinemic purpura due to a thymic tumour. *Lancet*, 1964, 1, 69.
9. *Braus H.* — Anatomie des Menschen, 1934, vol. II, ed. a 2-a, p. 122.
10. *Burnet F. M.* — Cellular immunology. Books one and two. Melbourne Univ. Press, 1969, Cambridge Univ. Press.
11. *Burnet F. M.* (1962 *a*) — Role of the thymus and related organs in immunity *Brit. med. J.*, 2, p. 807.
12. *Burnet F. M.* (1962) — The immunological significance of the thymus: an extension of the clonal selection theory of immunity. *Austr. Ann. Med.*, 11, p. 79.
13. *Castelman B.* (1966) — The pathology of the thymus gland in *myastenia gravis. Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 135, p. 496.
14. *Cesnik H. (1971)* — Lymph follicles in the thymus in cases of ulcerative colitis. *Langenbecks Arch. Chir.*, 328, 128.
15. *Clark S. L.* (1964) — The penetration of proteins and colloidal materials into the thymus from the blood stream, *in:* The Thymus-Symposium monograph, nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
16. *Clark S. L. Jr.* (1966) — Cytological evidences of selection in the thymus, *in:* The Thymus-Experimental and clinical studies; Wolstenholme G., Porter R. (eds.), Boston, Little, Brown & co, p. 3.
17. *Dalmasso, Martinez, Syodin, Good* (1963) — Studies on the role of the thymus in immunobiology. *J. Exp. Med.*, 118, p. 1 089.
18. *Fabiani G.* (1966) — Le rôle du thymus en immunopathologie. *Ann. Biol. clin.*, 24, 1, p. 1 029.
19. *Fichtelius K. E., Lavrell G., Philipson L.* (1961) — The influence of thymectomy on antibody formation. *Acta path. microbiol. scand.*, 51, p. 81.
20. *Fincher H. E.* (1967) — The effect of allografts of thymic epithelial reticular cells on the lymphoid tissues of neonatally thymectomized mice. *Blood*, 29, 1, p. 29.
21. *Goldstein G.* (1966) — Thymitis and myastenia gravis. *Lancet*, 2, 1 164.
22. *Goldstein G., Whittingham S.* (1966) — Experimental autoimmune thymitis. An animal model of human myastenia gravis. *Lancet*, 2, 315.
23. *Goldstein G., Whittingham S.* (1967) — Histological and serological features of experimental autoimmune thymitis in guinea pigs. *Clin. Exptl. Immunol.*, 2, 275.
24. *Glynn L. E., Holborow E. I. (1965)* — Autoimmunity and the thymus, *in:* Autoimmunity and disease, L. E. Glynn, E. I. Holborow (eds.), p. 85.
25. *Gabrielsen A. E., Good R. A.* (1966) — Editorial: thymoma. *Ann. intern. Med.*, 65 : 607—611.

Scanned with OKEN Scanner

26. *Gesner M. B.* (1965) — The life history and functions of lymphocytes .The inflammatory process. B. W. Zweifach, L. Grant, McCluskey (eds.), Acad. Press. New York, London.
27. *Good A. R., Gabrielsen E. A., Peterson R. D. A., Finsted I., Cooper M. D.*, (1966) — The development of the central and peripheral lymphoid tissue: ontogenetic and phylogenetic considerations. Thymus — experimental and clinical studies. CIBA Found. Symposium, p. 181.
28. *Good A. R., Peterson D. A. R., Gabrielsen A. E.* (1965) — The function of the thymus, *in*: Immunological diseases, Max Samter (ed.), p. 52.
29. *Helyer B. I., Howie I. B. (1963)* — The thymus and autoimmune disease, *Lancet*, 11, 1 026.
30. *Hortolomei N., Juvara I., Setlacec D., Marinescu-Slatina, Hasnaş N.* (1953) — Tratamentul miasteniei prin timectomie. *Stud. Cercet. Endocr.*, V, 1—2, p. 145.
31. *Humphrey J. H., Parrott D. M. V., East I.* (1964) — Studies on globulin and antibody production in mice thymectomized at birth. *Immunology*, 7, p. 419.
32. *Humphrey J. H.* (1964) — Studies on globulin and antibody production in mice thymectomized at birth. *Proc. roy. Soc. Med.*, 57, p. 151.
33. *Juvara I., Raţiu O., Prişcu Al.* (1958) — Tratamentul chirurgical al miasteniei gravis. Rezultate imediate şi tardive după timectomie. *Neurologia (Buc.)*, nr. 2, p. 78.
34. *Juvara I., Motomancea D., Bossy S.* (1969) — Timectomia în miastenia gravis. Chirurgia, XVIII, 8, 673.
35. *Karaklis A., Valaes T., Pantelakis S. N., Doxiadis A. S.* (1964) — Thymectomy in an infant with autoimmune haemolitic anemia. *Lancet*, 2, p. 778.
36. *Low L. W., Trainin N., Lewey R. H., Barth W. F.* (1964 *a*) — Humoral thymic factor in mice: further evidence. *Science*, 143, p. 1 049.
37. *Low L. W., Dunn T. B., Trainin N., Levey R. H.* (1964) — Studies of thymic function. The Thymus — Symposium monograph, nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
38. *Low L. W.* (1966) — Studies of thymic function with emphasis on the role of the thymus in oncogenesis. *Cancer Res.*, 26, 4, p. 551.
39. *Mackay I. R., Goldstein G., McConochie I. H.* (1963) — Thymectomy in systemic lupus erythematosus. *Brit. Med. J.*, 2, p. 792.
40. *Mackay I. R., Smalley M.* (1966) — Results of thymectomy in systemic lupus erythematosus: observation on clinical course and serological reactions. *Clin. Exptl. Immunol.*, 1, p. 129.
41. *Marschall A. H. E., White R. G.* (1961) — The immunological reactivity of the thymus. *Brit. J. exp. Path.*, 42, p. 379.
42. *Metcalf D., Ishidate M.* (1962) — PAS-positive reticulum cells in the thymus cortex of high and low leukemia strain of mice. *J. exp. biol. med. Sci.*, 40, p. 57.
43. *Metcalf D.* (1964) — Functional interactions between the thymus and other organs. The Thymus-Symposium monograph, nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
44. *Miller J. F.* (1966) — The thymus in relation to the development of immunological capacity. CIBA found. Symposium. Thymus. Experimental and clinical studies: G. E. W. Wolstenholme, R. Porter (eds.), London p. 153.
45. *Miller J. F.* (1964) — Effect of thymus ablation and replacement of the thymus in immunobiology. E. A. Good, A. Gabrielsen (eds.), Hoeber Med. Div., Philadelphia, p. 436.
46. *Miller J. F. A. P.* (1961) — Immunological function of the thymus. *Lancet*, 2, p. 748.
47. *Miller J. F.* (1964) — Recovery in immunological responsiveness in thymectomized animals by thymus grafting. The Thymus Symposium, monograph nr. 2, V. Defendi, D. Metcolf (eds.).
48. *Miller J. F.* (1965) — The thymus and transplantation immunity. *Brit. med. Bull.*, 21, 2, p. 11.

Scanned with OKEN Scanner

7

DRENAREA CANALULUI LIMFATIC TORACIC

La om, drenarea canalului limfatic toracic a fost realizată tehnic de Schaffiroff şi colab. (35), după experimente preliminare datînd din 1948 (5), însă a devenit un mijloc de imunosupresie în 1962, cînd Gowans şi colab. au arătat, la şobolani, dispariţia răspunsului primar antigenic fără interferarea răspunsului anticorpic secundar, consecutiv drenării canalului toracic timp de 5 zile (13). La om, această metodă imunosupresivă a fost realizată de Dumont şi colab. (1964) şi Tunner şi colab. (1965). Actualmente e folosită de mai multe echipe de cercetători, mai ales pentru a preveni respingerea transplantelor renale. În aceste cazuri, drenarea canalului limfatic are un triplu scop: imunosupresia, restabilirea homeostaziei prin dializa extracorporală a limfei şi obţinerea limfocitelor umane necesare la prepararea serului antilimfocitar.

Principiul utilizării acestui mijloc imunosupresiv rezultă din rolul limfocitelor în imunitate. Se urmăreşte obţinerea unei stări de toleranţă în împrejurări în care cantitatea de anticorpi formată în organism e depăşită de doze mult superioare de antigene (*high dose tolerance*, evidenţiată de Mitchison, 24). Deci, toleranţa poate fi obţinută, fie crescînd doza de antigen, ceea ce nu e posibil deocamdată, fie scăzînd numărul celulelor imunocompetente susceptibile să reacţioneze la antigen. În cazul nostru, drenăm limfocitele în exterior prin derivaţia chirurgicală a canalului toracic. În felul acesta, doze de antigene — care în alte condiţii ar fi fost imunogene — determină toleranţa (34).

După cum s-a văzut în *Partea întîi, capitolul 1*, limfocitele reprezintă o populaţie celulară heterogenă în ceea ce priveşte morfologia (volumul, ultrastructura), proprietăţile citochimice, proprietăţile biologice (metabolism, rezistenţă la corticosteroizi şi la radiaţiile ionizante), durata de viaţă şi funcţiile imunologice.

Scanned with OKEN Scanner

Drenînd canalul toracic la om se obţin cel puţin două populaţii separate de limfocite (39):

a) mai mult de 90% sînt mici, cu durată lungă de viaţă (300 de zile *in vivo*, fapt dovedit prin marcarea cu timidină-H_3) (25), recirculînd permanent din sînge spre limfă; aparţin probabil sistemului timodependent;

b) după un drenaj prelungit apar limfocite mai mari, cu durată de viaţă scurtă (27), în număr relativ mic, dar menţinut constant prin producţia lor continuă de către ţesutul limfoid din pereţii şi vilozităţile intestinale. Studii autoradiografice arată că aceste celule sînt sensibilizate de antigene în intestin, fiind precursoarele plasmocitelor (26). Nu e exclus însă ca o parte din limfocitele mici imunocompetente să provină tot din aceste limfocite mari. Faptul e mai greu de clarificat, întrucît chiar printre limfocitele mari s-au descris grupuri cu diferite modificări ultrastructurale (20).

La animale, limfocitele mici sînt probabil în majoritate de origine timică: timectomia scade concentraţia şi debitul limfocitelor în canalul toracic şi e însoţită de o aplazie a zonelor paracorticale ganglionare „timodependente". Drenarea canalului toracic goleşte de celule aceleaşi zone (30). Acest aspect prezintă un deosebit interes, deoarece scopul încă neatins al imunosupresiei constă în scoaterea din funcţiune a sistemului timodependent, fără afectarea sistemului bursodependent (adică suprimarea reacţiilor imunologice mediate de celule, fără a modifica producţia de anticorpi).

CIRCULAŢIA LIMFOCITELOR ÎN ORGANISM

În sistemul limfatic se găsesc, pe de o parte, limfocite produse de organele centrale limfopoetice, pe de alta, limfocite cu durată lungă de viaţă, care recirculă după vărsarea limfei în sîngele venos pe un ciclu hemolimfatic, bine studiat în ultimul timp (12; 144 etc.).

Limfa ajunge din intestin în vasele limfatice datorită unor surse extralimfatice de energie (mişcările muşchilor scheletici, pulsaţiile arteriale) (17). De aici e îndreptată, spre canale de transport tot mai largi, de către pulsaţiile canaliculare intrinseci, care asigură o presiune de 20 mm Hg (măsurată de Hall, Morris şi colab., 1965, cu traductor manometric electronic) (vezi 17). În ultimă instanţă, principalele colectoare limfatice, din care face parte şi canalul toracic, se varsă în sîngele venos. Limfocitele circulante vii se reîntorc însă în limfă.

Astfel, administrînd intravenos la om sau animal limfocite marcate cu P^{32}-adenozină, C^{14}-leucină, H^3-uridină, 90% dintre ele se găsesc în canalul toracic (14; 28) (1968). La om, ele dispar din circulaţia sanguină în 20—30 de minute; în ductul toracic apar începînd la o oră după injectare şi cresc pînă într-a cincea zi (28). Din sînge spre limfă, limfocitele străbat citoplasma celulelor endoteliale ale venulelor postcapilare din splină, ganglionii limfatici şi alte ţesuturi (20). Cantitativ, la debitul

Scanned with OKEN Scanner

sanguin de 1 ml/min/g ganglion limfatic, 12% din limfocitele sanguine se regăsesc în canalul eferent limfatic, constituind majoritatea celor 30×10^6 limfocite din vasul eferent (studiu efectuat de J. B. Hall în 1967, pe berbec) (vezi 17).

TEHNICĂ

Cateterizarea experimentală, la animale, a vaselor limfatice a fost realizată în 1948 de Bollman şi colab. (vezi 5; 19), iar a canalului toracic uman, cronic, de Schaffiro, Kau (1959) la 22 de bolnavi.

Redăm pe scurt *tehnica operaţiilor pe om,* folosită actualmente la Peter Bent Brigham Hospital (38); detalii tehnice se găsesc în excelentul articol al lui Artz şi colab. (2).

Canalul toracic limfatic e evidenţiat sub anestezie locală printr-o incizie supraclaviculară stîngă. Inserţia claviculară a muşchiului sterno-cleido-mastoidian e secţionată şi fascia supraiacentă deschisă pentru a obţine un cîmp de expunere maxim. Vena jugulară internă stîngă e izolată şi disecată la joncţiunea cu vena subclavie.

Poziţia canalului toracic poate varia, dar de obicei îl găsim profund, pe marginea laterală a venei jugulare interne. El se goleşte în vena subclavie sau vena jugulară stîngă, în confluentul jugulo-subclaviar stîng sau, mai rar, în vena nenumită stîngă. Vizualizarea maximă şi izolarea canalului toracic pot fi obţinute prin mobilizarea sau, eventual, secţionarea venei jugulare interne. Canalul toracic formează de obicei un singur trunchi, dar poate să se dividă în cîteva ramuri scurte înainte de a se vărsa în venă. Trunchiul principal poate fi confundat cu limfaticele largi, superficiale, care se unesc adesea cu ductul principal la 2—3 cm de terminarea lui.

Diametrul canalului toracic e de obicei de 3—6 mm. Rareori este prea mic pentru o cateterizare satisfăcătoare. Se introduce, pe o distanţă de 1—2 cm de la joncţiunea limfatico-venoasă, un cateter silastic, fixat atent de duct, ţesutul subcutanat şi piele, pentru a preveni deplasarea. Limfa curge abundent prin deschizătura ductului; nu se constată vreun reflux sanguin venos, datorită valvelor semilunare din apropierea terminaţiei ductului. Pliuri endoteliale inconstante în lumenul ductului împiedică uneori o intubare de peste cîţiva milimetri.

Variantele postoperatoare ţin de modalităţile de compensare a pierderii de limfă:

a) mulţi autori (13; 41; 7; 40) folosesc soluţii de albumină, plasmă sau electroliţi pentru reechilibrarea volemică, hidro-electrolitică şi a presiunii oncotice;

b) ulterior, alţi autori (18; 38; 39) au reintrodus supernatantul limfatic după eliminarea limfocitelor prin centrifugare (1 500 rotaţii/min., timp de 15 minute);

c) Sarles şi colab. reintroduc limfa în vena jugulară externă după ce o dializează (aceasta necesită o colectare la rece, pînă ce se strîng

Scanned with OKEN Scanner

circa 4 litri de limfă) și înlătură limfocitele (32; 33). Dializa simplă a fost încercată și la bolnavi ambulatori, prin crearea unui *by-pass* limfo-jugular, introducînd în circuit un dializor miniatural și o pompă portabilă (vezi 9).

INCIDENTE

Încercările de cateterizare a ductului toracic eșuează cam într-o treime din cazuri, datorită variațiilor anatomice (canal toracic prea subțire, multiplu, în arbust sau delta).

În cazurile care ne interesează (cînd se drenează canalul limfatic cu scop imunosupresiv, la 3—7 zile înainte de transplantare), fistulele tind să se obstrueze prin coagulare la 48 de ore după transplant. În această perioadă crește numărul eritrocitelor din limfă; hematocritul crește cu 1—2 pînă la 4—5%, ceea ce se poate explica prin funcționarea sistemului limfatic ca o comunicație porto-sistemică ce drenează retroperitoneul și patul splanhnic. Sînt necesare în acest caz o irigare atentă cu soluții heparinizate și schimbarea frecventă a tuburilor de legătură (39).

Reintroducerea limfei centrifugate, sau centrifugate și dializate, în vena jugulară externă crește posibilitatea infecțiilor din sistemul complicat de prelucrare. Imunosupresia realizată de drenaj favorizează de asemenea infecțiile.

Blocarea sau ligaturarea canalului limfatic la nivel cervical nu a antrenat nici o tulburare secundară și nici o sechelă la cei 14 bolnavi ai lui Tilney și colab. (39).

REZULTATE

La două treimi din bolnavi reușește cateterizarea în bune condiții a canalului toracic (29; 30). În condiții de supraveghere continuă, fistulele rămîn actualmente permeabile 12—16 zile (39; 1).

În acest interval, volumul total al limfei culese este de 10—83 de litri (39; 1).

EFECTUL DRENĂRII CANALULUI TORACIC ASUPRA LIMFOCITELOR

În 12—16 zile de drenaj sînt colectate 25×10^9 pînă la 10^9 limfocite. Numărul limfocitelor din ductul toracic scade rapid în primele 3—6 zile, menținîndu-se apoi la un nivel relativ constant. Limfocitopenia sanguină se instalează concomitent. O împuținare semnificativă a numărului acestor celule persistă circa 5 luni după drenaj, atît în limfă, cît și în sîngele periferic (aceasta este perioada cea mai lungă în care s-au efectuat testările) (39). La animale de laborator scade concomitent greutatea ganglionilor limfatici și a splinei. Reinjectarea continuă de limfocite vii din

Scanned with OKEN Scanner

fistulele animalelor previne depleția celulară, dar limfocitele omorîte sau limfa fără celule n-au efect, nici la animale (14), nici la om (39).

Drenarea canalului limfatic la om scade deci numărul absolut al limfocitelor mici din organism, depășind capacitatea generării lor de către organele limfopoetice și le blochează circulația și recirculația hemo-limfatică.

Pe lîngă limfopenie se observă (28; 29): înmulțirea monocitelor, apariția unor forme atipice și o mai intensă activitate fagocitară a monocitelor; scade răspunsul limfocitelor în culturi de țesuturi la fitohemaglutinine; crește sinteza spontană de acid dezoxiribonucleic de către celulele mononucleare cultivate fără agent stimulator.

EFECTUL DRENĂRII CANALULUI TORACIC ASUPRA PROCESELOR IMUNE

Prezentăm aceste efecte separat din cauza complexității fenomenelor imune, mai ales a celor care însoțesc transplantele, așa că nu pot fi deduse direct efectele imunosupresive ale drenajului limfatic din acțiunea lui limfopeniantă. Numeroase puncte sînt încă neclarificate.

În 1962, Gowans și colab. comunică *dispariția răspunsului imun primar* anticorpic la un antigen administrat șobolanilor după cinci zile de drenaj al limfei canalului toracic, răspunsul imun secundar fiind nemodificat. Aceste date sînt confirmate la om de Tunner și colab. (40) (la nouă bolnavi cu drenaj al canalului toracic timp de patru zile), de Irven și colab. (18) (la nouă bolnavi cu drenaj limfatic timp de patru-cinci zile, la patru fiind reinjectat supernatantul limfatic). La doi bolnavi cu insuficiență renală cronică, Graber și colab. (15) observă după dializa limfatică și scăderea limfocitelor sanguine la 700/mm^3, și respectiv 500/mm^3, o scădere atît a răspunsului imun primar, cît și a *răspunsului imun secundar,* la antigenele *O* și *H* ale vaccinului antitific. Ei infirmă ipoteza lui McGregor, Gowans (22), după care limfocitele canalului toracic n-ar fi incriminate în răspunsul secundar, spre deosebire de sistemul de celule fixe din sistemul limfoid.

La drenarea canalului limfatic la om se constată scăderea γ-globulinelor serului și limfei și a izohemaglutininelor serului și limfei (de exemplu, la 24 de bolnavi la care nivelul limfocitelor sanguine nu s-a modificat semnificativ în cursul drenajului) (17). Alți autori (39) găsesc o scădere nesemnificativă a fracțiunilor proteice serice, chiar în condiții de limfopenie, în schimb raportează scăderea globală a proteinelor limfatice (cu excepția α-globulinelor). Graber și colab. (15) măsoară pentru prima dată valorile limfatice ale complementului total și ale β_1-globulinei la om (valori de 30% față de ser, date identice cu cele obținute de Gewurz (11) la cîine). În condițiile în care limfocitele serice au scăzut sub 500/mm^3, β_1C-globulina și imunoglobulinele *G* scad, pe cînd imunoglobulinele *G* din limfă (de obicei de 1/10 din valorile serice) nu sînt reduse mult. În schimb, imunoglobulina *M* scade în ser și nu apare de loc în limfă (unde valorile normale sînt de circa 1/3 față de ser). Aceste mo-

Scanned with OKEN Scanner

dificări în ser şi limfa restantă ar explica parţial efectul imunosupresor (15).

Prelungirea supravieţuirii alogrefelor de piele, în urma drenării canalului limfatic (în exterior — 31 — sau prin fistulă gastro-intestinală — 21 —) a fost semnalată la animale de Woodruff şi Anderson (41; 42), urmaţi de alţi cercetători (23). Fitts şi colab. (9) obţin o supravieţuire a alogrefei cutanate, identică aceleia raportate de Cronkite (6) la animale cu limfa canalului toracic iradiată extracorporal. Ei corelează acceptarea alogrefelor cu numărul limfocitelor din limfă, nu cu numărul limfocitelor sanguine. Singh (1965) prelungeşte supravieţuirea alogrefelor renale la cîine, în corelaţie directă cu durata drenajului limfatic (37).

La om, Tunner şi colab. (40) semnalează prelungirea supravieţuirii alogrefelor de piele şi deprimarea hipersensibilităţii cutanate imediate şi întîrziate. Un bolnav prezentat de Graber şi colab. (15) reţine alogrefele de piele mai mult de 3 luni, după dializarea limfei şi centrifugare, limfocitele atingînd valori de 700/mm^3. Succese în prevenirea respingerii transplantelor renale au fost citate de Tilney şi Murray pe 14 cazuri (38; 39). Bolnavii cu drenaj limfatic abundent au avut perioade de respingere semnificativ mai puţine decît cei care au drenat puţin şi decît cei operaţi fără cateterizarea ductului toracic. Imunosupresia de bază a fost identică la grupul de studiu şi la martori. Aceste date au fost confirmate pe patru bolnavi cu transplant de alogrefe renale de cadavru la care fac dializa limfatică şi reduc limfocitele sanguine la circa 100/mm^3 (33). Fără alte imunosupresoare şi fără menţinerea dializei limfatice, semnele de respingere au apărut la trei bolnavi la 17—50 de zile după transplantare. La al patrulea bolnav s-a continuat depleţia limfocitelor 78 de zile după operaţie, timp în care nu au apărut semne de respingere (32; 33).

INDICAŢII. SCHEME TERAPEUTICE

1. Drenarea canalului limfatic în scop imunosupresiv este folosită la ora actuală în *transplantele renale la om* (38; 39; 32; 1), deoarece pe de o parte previne respingerea grefei (38; 39; 32), iar pe de altă parte permite, prin dializa limfei, corectarea uremiei (9; 32) şi asigură limfocitele necesare preparării serului antilimfocitar, în acelaşi timp avînd o tehnică sigură, nepericuloasă în condiţiile unei supravegheri atente (30).

Schema terapeutică utilizată de Tilney şi colab. (38) şi Sarles şi colab. (33) constă în drenarea canalului toracic cu 3—7 zile înainte de transplantarea rinichiului, cu reintroducerea supernatantului limfatic intravenos, fistula fiind menţinută cît mai mult posibil (în medie 16 zile). Cînd se efectuează şi dializa extracorporală a limfei, pentru combaterea uremiei, ritmul dializei depinde de starea bolnavului (de exemplu, s-au efectuat trei dialize pe săptămînă unui bolnav cu uremie, timp de şase săptămîni) (15).

Scanned with OKEN Scanner

2. Alte indicaţii ale drenării canalului toracic:

a) Dializa limfatică extracorporală la bolnavi cu insuficienţă renală cronică şi uremie (Cornemiller, 1959; Gowans, Uhr, 1966; Sarles, 1965—1966; Graber şi colab. (citaţi de 9), 1969). Echipa de la Medical College South Caroline (9) a încercat chiar dializa ambulatorie la 2 bolnavi cu *by-pass* limfo-venos, cu pompă portabilă ambulatoriu, pentru reintroducerea limfei trecute printr-un dializor miniatural.

Această tentativă nu a reuşit, deoarece uremia severă nu poate fi controlată decît prin dializa întregii cantităţi de limfă, adică la un flux limfatic de circa doi litri pe zi (9).

b) Tratamentul paliativ al cirozei hepatice cu ascită şi hipertensiune portală (8).

c) Tratamentul insuficienţei cardiace congestive.

d) Tratamentul leucemiei limfatice cronice (Binet şi colab., 1967).

În concluzie, prin aportul de limfocite necesare preparării serului antilimfocitar şi atenuarea răspunsurilor imune, drenarea limfei canalului toracic poate fi folosită ca mijloc imunosupresiv, eficient mai ales în transplantele renale, alături de celelalte mijloace imunosupresive.

BIBLIOGRAFIE

1. *Archimbaud J. P., Bansillon V., Bermhardt J. P., Revillard J. P., Perrin J., Traeger J., Carraz M., Fries D., Saubier E., Bonnet P., Brochier J., Zech P.* — Technique, surveillance et intérêt du drainage du canal thoracique, effectué en vue d'une transplantation renale. *J. chir. Paris*, 1969, 98, 3 : 211.
2. *Artz C. P., Hargest T. S., Sarles H. E.* — Technique for cannulation of the thoracic duct. *Surg. Gynec. Obstet.*, 1967, 124 : 1 085.
3. *Binet J. L., Villeneuve B., Bécart R., Logeais Y., Laudat P., Mathey J.* — Temps de pasage dans le canal thoracique des lymphocytes du sang de la léucemie lymphoide chronique. *Nouv. Rev. Franç. Hémat.*, 1967, 7, 621.
4. *Bishop C., Athens J., Bogg S. D., Warner H., Cartwright G., Wintrobe M.* — Leukokonetic studies, XIII. *J. clin. Invest.*, 1968, 47, 249.
5. *Bollman J. L., Cain J. C., Grindlay J. H.* — Techniques for the collection of lymph from the liver, small intestine or thoracic duct of the rat. *J. Lab. Clin. Med.*, 1948, 33 : 1 349—1 352.
6. *Cronkite E., Chanana A., Schnappauf H.* — Extracorporeal irradiation of blodd and lymph in animals. *New Eng. J. Med.*, 1965, 272: 456.
7. *Dumont A. E., Mayer D. J., Mulholland J. H.* — The suppression of immunologic activity by diversion of thoracic duct lymph. *Ann. Surg.*, 1964, 160 : 373—383.
8. *Dumont A. E., Mulholland J. H.* — Alteration in thoracic duct lymph in hepatic cirrhosis. *Ann. Surg.*, 1965, 156 : 668.
9. *Fitts Ch. T., Williams A. V., Graber Gh. D., Artz C. P., Hargest T. S.* — Thoracic duct lymph. Its significance in dialysis and immunology. *Surg. Clin. North Am.*, 1969, 49, 3: 533—541.
10. *Gesner B. M.* — *in*: Lymph and the lymphatic system. H. S. Mayerson (ed.), C. C. Thomas, Springfield, 1968, p. 310.

Scanned with OKEN Scanner

11. *Gewurz H. E.* — Microbiologist's role in transplantation. Symposium Amer. Soc. for Microbiol., Detroit, 1968.
12. *Gowans J. L.* — The effect of the continuous reinfusion of lymph and lymphocytes on the output of lymphocytes from the thoracic duct of unanaesthetized rats. *Brit. J. Exp. Path.*, 1957, *38*: 67.
13. *Gowans J. L., McGregor D. D., Cowen D. M.* — Initiation of immune responses by small lymphocytes. *Nature (Lond.)*, 1962, 196: 651—655.
14. *Gowans J. L., Kinght E. J.* — The route of re-circulation of lymphocytes in the rat. *Proc. Roy. Soc. (B)*, 1964, 159: 257.
15. *Graber C. D., Fitts C. T., Williams A. V., Artz C. P., Hargest T. S.* — Immunologic competence in the lymph-dialyzed patient. *Surg. Gynec. Obstet.*, 1969, 128: 1—7.
16. *Greaves M. F., Tursi A., Playfair J. H., Torriagini G., Zamir R., Roitt J.* — Immunosuppressive potency and *in vitro* activity of antilymphocyte globulin. *Lancet*, 1969, 1, 68.
17. *Hall J. G.* — Current concepts: The Flow of Lymph. *New Engl. J. Med.*, 1969, 281, 13: 720.
18. *Irvin G. L., Carbone P. P.* — Immunosuppression with lymph depletion in man. *Surg. Gynec. Obstet.*, 1967, 124: 1 283—1 287.
19. *Lascelles A. K., Morris B.* — Surgical techniques for the collection of lymph from unanaesthetized sheep. Quart. *J. Exp. Physiol.*, 1961, 46: 199, 205.
20. *Marchesi V. T., Gowans J. L.* — The migration of lymphocytes through the endothelium of venules in lymph-nodes. An electron microscopic study. *Proc. Roy. Soc. (B)*, 1964, 159: 283.
21. *Mayer D. J., Dumont A. E.* — Prolonged survival of skin homografts following diversion of thoracic duct lymph. *Surg. Forum*, 1963, 14: 194—195.
22. *McGregor D. D., Gowans J. L.* — The antibody response of rats depleted of lymphocytes by chronic drainage from the thoracic duct. *J. Exp. Med.*, 1963, *117*, 303.
23. *McGregor D. D., Gowans J. L.*, — Survival of homografts of skin in rats depleted of lymphocytes by chronic drainage from the thoracic duct. *Lancet*, I, 1964, 629.
24. *Mitchison N.* — Transplantation immunology, *in*: Organ transplantation today. *Excerpta med. Found.*, Amsterdam, 1969, 13—21.
25. *Norman A., Sasaki M. S., Ottoman R. E., Fingerhut A. G.* — Lymphocyte lifetime in women. *Science*, 1965, 147: 745.
26. *Nossal G. J. V., Makela O.* — Autoradiographic studies of the immune response. *J. Exp. Med.*, 1962, 115: 209.
27. *Ottesen J.* — On the age of human white cells in peripheral blood. *Acta Physiol Scand.*, 1954, 32: 75.
29. *Revillard J. P., Brochier J., Durix A., Bernhardt J. P., Bryon P. A., Archimbaud J. P., Fries D., Tracger J.* — Drainage du canal thoracique avant transplantation chez des malades atteints d'insuffisance rénale chronique. *Nouv. Rev. Fr. d'Hémat.*, 1968, 8, 585.
29. *Revillard J. P., Fries D., Archimbaud J. P., Brochier J., Traeger J.* — Drainage du canal thoracique chez l'homme avant transplantation rénale; technique, surveillance et résultats. *J. d'Urol. et de Néphrol.*, 1969, 75, 604.
30. *Revillard J. P.*, — Déplétion lymphocytaire par drainage du canal thoracique chez l'homme. *Cah. méd. Lyon.*, 1970, 46, 8: 703—706.
31. *Samuelson J. S., Fisher B., Fisher E. R.* — Prolonged survival of skin homografts in dogs with thoracic duct fistula. *Surg. Forum*, 1963, 14: 192—193.
32. *Sarles H. E., Remmers A. R., Beathard G. A., Canales C. O., Fish J. C., McKay G., Hawthorne S., Ritzmann S. E.* — Suppression of cellular immunity by lymph duct drainage in man. *Clin. Res.*, 1968, 16: 323.
33. *Sarles H. E., Fish J. C., Remmers A. R. Jr., Canales C. O., Beathard G. A., Tyson D., Ritzmann S. E.* — Depletion of circulating lymphocytes in preparation of renal allografts. *Clin. Res.*, 1968, 16: 394.

Scanned with OKEN Scanner

8

UTILIZAREA ANTICORPILOR UMORALI SAU LEGAȚI DE CELULE

Din punct de vedere experimental, imunoglobulinele anticorpice pot fi folosite ca mijloace de imunosupresie în unul din următoarele moduri:

1. mascarea determinanților antigenici prin anticorpi specifici administrați pasiv;

2. blocarea prin ser antiimunoglobulinic a receptorului imunoglobulinic celular pentru antigen;

3. acțiune citotoxică asupra limfocitelor, prin ser antilimfocitar;

4. îndepărtarea limfocitelor sensibilizate specific folosind receptorul imunoglobulinic celular pentru antigen.

Deocamdată au aplicație clinică administrarea pasivă de anticorpi, în prevenirea izoimunizării Rh, serul antilimfocitar, în chirurgia de transplantare și, mai recent, în unele boli în care e implicat un mecanism imunologic (vezi *Partea a treia, capitolele 2, 3 și 4*).

MASCAREA DETERMINANȚILOR ANTIGENICI PRIN ANTICORPI SPECIFICI ADMINISTRAȚI PASIV

Imunosupresia prin anticorpi specifici pornește de la ideea că răspunsul imun prin anticorpi circulanți rezultă din interacțiunea dintre un determinant antigenic de pe un antigen complex și receptorul imunoglobulinic corespunzător situat la suprafața limfocitelor mici. Această interacțiune poate avea loc *in vitro*, înainte de inoculare, dar și *in vivo*, după inocularea antigenului și anticorpului. În acest mod, un anumit determinant antigenic e împiedicat să ia contactul cu receptorul corespunzător de pe limfocitele mici pentru a-l angaja la răspunsul imun (5; 4; 2). Deoarece efectul inhibitor al anticorpului administrat pasiv depinde de fragmentul *Fab* al anticorpului, se presupune că acest efect se datorește combinării directe a anticorpului cu determinantul antigenic.

Scanned with OKEN Scanner

Interacţiunea antigen-anticorp specific ar avea loc nu cu antigen nativ, ci cu antigen prelucrat la nivelul macrofagelor, şi care se prezintă sub forma complexelor acid ribonucleic — antigen (superantigenul) (3).

Acei determinanţi antigenici de pe moleculă pentru care în serul imun nu există anticorpi specifici vor fi imunogeni. Anticorpii specifici pot funcţiona deci ca agenţi imunosupresivi, înlăturînd din sistem antigenul.

Nu există nici o dovadă în favoarea unei acţiuni „centrale“ (asupra celulelor imunocompetente) a anticorpilor specifici administraţi pasiv.

Administrarea simultană a antigenului şi anticorpului ca atare sau după o prealabilă interacţiune *in vitro* duce la realizarea unor complexe imune care vor fi captate de sistemul macrofagic. În funcţie de rezistenţa celor doi parteneri, la metabolizarea *in vivo* e împiedicat contactul antigenului cu celulele imunologic competente şi deci răspunsul imun. Anticorpul intră în circuitul catabolic propriu oricărei proteine. Antigenul, în cazul în care este mai rezistent la metabolizare decît anticorpul, se va demasca şi va induce, deşi mai tîrziu, un răspuns anticorpic. Prin urmare, în aceste condiţii a avut loc doar o întîrziere (nu o suprimare) a producerii de anticorpi.

Administrarea de anticorpi specifici la un timp variabil după producerea unui răspuns anticorpic inhibă producerea de anticorpi prin acelaşi mecanism, blocarea determinanţilor antigenici. Această inhibiţie nu e imediată, ci se produce după o perioadă de „lag“, dependentă de durata de viaţă a celulelor imunologic competente deja angajate în răspunsul imun şi aviditatea receptorului imunoglobulinic de suprafaţă. Răspunsul primar e mai uşor inhibat decît cel secundar.

Pentru a explica acest fapt trebuie admis, pe de o parte, că celulele imunologic competente angajate în răspunsul primar au o viaţă mai scurtă decît cele angajate în răspunsul secundar. Pe de altă parte, aviditatea receptorilor imunoglobulinici celulari pentru antigen creşte cu timpul, astfel încît celulele imunologic competente producătoare de anticorpi de tip 7 S proprii răspunsului secundar sînt competitori mai puternici pentru antigen decît celulele imunologic producătoare de anticorpi de tip 19 S sau 7 S „timpurii“.

Deoarece în această situaţie are loc o competiţie pentru antigen între anticorpii administraţi pasiv şi receptorii imunoglobulinici celulari, rezultă că şi tipul de anticorp administrat pasiv e un factor de care depinde efectul lor inhibitor: anticorpii 7 S „tîrzii“ cu o aviditate înaltă pentru antigen sînt inhibitori mai eficienţi decît anticorpii 19 S şi 7 S „timpurii“, cu aviditate mai mică.

În concluzie, caracterele inhibiţiei răspunsului imun prin anticorpi administraţi pasiv sînt următoarele: *a*) este specifică; *b*) depinde de fragmentul *Fab*; *c*) apare după o perioadă de „lag“; *d*) mecanismul constă în scăderea numărului de celule imunologic competente angajate prin scăderea cantităţii de antigen; *e*) nu inhibă celulele imunologic competente cu memorie; *f*) sinteza precoce de anticorpi e mai uşor inhibată decît cea tardivă; *g*) anticorpii „tîrzii“ administraţi pasiv sînt inhibitori mai puternici decît cei „timpurii“ (5).

Scanned with OKEN Scanner

Efectul cel mai obişnuit al anticorpilor administraţi pasiv îl constituie inhibarea propriei lor produceri. Efectul inhibitor se exercită îndeosebi asupra antigenelor particulate. Dimpotrivă, antigenele proteice solubile complexate cu anticorpi specifici administraţi pasiv devin mai imunogene, probabil prin scăderea vitezei lor de catabolizare.

BLOCAREA PRIN SER ANTIIMUNOGLOBULINIC A RECEPTORULUI IMUNOGLOBULINIC CELULAR PENTRU ANTIGEN

Se presupune că limfocitele mici sînt angajate într-un răspuns imun prin combinarea antigenului cu receptorul anticorpic care ar fi localizat la suprafaţa externă a celulelor imunologic competente.

Natura imunoglobulinică a receptorului celular pentru antigen a fost dovedită blocînd *in vitro* un răspuns secundar prin ser antiimunoglobulinic. Mecanismul de acţiune constă în competiţia dintre antigenul declanşant al răspunsului secundar şi serul antiimunoglobulinic pentru aceiaşi receptori celulari. Dozele mari de antigen pot împiedica efectul antiserului. Aceasta pledează împotriva unui efect citotoxic al serului imunoglobulinic asupra limfocitelor mici. Acţiunea sa se exercită în absenţa complementului.

Blocarea răspunsului imun s-ar putea explica şi printr-o simplă împiedicare sterică a unui antigen cu receptorul celular, nu neapărat printr-o reacţie de tip antigen-anticorp.

Deoarece serul antiimunoglobulinic interacţionează cu oricare receptor celular de tip imunoglobulinic, imunosupresia realizată e nespecifică (fig. 4). Deocamdată, această modalitate de imunosupresie nu a intrat în practica clinică.

ACŢIUNEA CITOTOXICĂ A SERULUI ANTILIMFOCITAR ASUPRA LIMFOCITELOR

Ţinta acţiunii serului antilimfocitar o constituie limfocitele (fig. 4), mecanismul său de acţiune e citotoxicitatea.

Distrugerea limfocitelor mici rezultă din aglutinarea lor iniţială, urmată de liză prin fixarea complementului. Imunosupresia obţinută prin serul antilimfocitar e nespecifică. Serul antilimfocitar a fost prezentat detaliat în *Partea a doua, capitolul 4.*

ÎNDEPĂRTAREA LIMFOCITELOR SENSIBILIZATE SPECIFIC

Este binecunoscut rolul limfocitelor mici în agresiunea imunologică. Toate mijloacele care îşi exercită efectul imunosupresiv prin distrugerea limfocitelor mici realizează o imunosupresie nespecifică: sînt distruse atît limfocitele mici angajate specific într-un anumit lanţ autoagresiv, cît şi cele neangajate în răspunsul imun.

Din acest motiv, găsirea unui procedeu de îndepărtare selectivă a celulelor specific sensibilizate (de tipul metodelor de epurare extrarenale

Scanned with OKEN Scanner

folosite periodic la bolnavii cu insuficiență renală cronică) prezintă un deosebit interes teoretic, dar mai ales practic.

Wigzell (1969), admițînd că la suprafața celulelor imunologic competente ar exista receptori imunoglobulinici specifici pentru antigen, a reușit, în condiții experimentale, să îndepărteze din populația de limfocite mici periferice numai acelea angajate în răspunsul imun de un anumit antigen. În acest scop a trecut — peste o coloană din perle de sticlă acoperite cu antigenul dat — o suspensie celulară provenind de la un animal imunizat cu același antigen. Folosind tehnica plăcilor de hemoliză Jerne a constatat că numărul celulelor imunologic competente producătoare de anticorpi specifici era mult mai mic la ieșirea din coloană sau că dispăreau cu desăvîrșire. În aceste condiții, perlele acoperite cu antigen funcționau ca imunosorbanți pentru celulele sensibilizate specific.

E tentat să ne imaginăm că acest procedeu ar putea fi folosit și în terapia specifică a bolilor autoimune. Dificultatea constă de obicei în necunoașterea antigenului care a pus în mișcare răspunsul imun autoagresiv sau în imposibilitatea de a-l izola.

Procedeul e folosit deocamdată în studii de imunologie fundamentală și rămîne de văzut dacă va putea fi vreodată aplicat în clinică.

S-a putut demonstra astfel că sînt fixate specific de coloană, atît limfocitele mici angajate în răspunsul primar, cît și cele cu memorie. Prin urmare, ambele tipuri celulare au la suprafață receptori imunoglobulinici pentru antigen. Numărul celulelor fixate e direct proporțional cu cantitatea de antigen fixată pe perle. El depinde și de momentul imunizării, celulele imunologic competente „timpurii" fiind captate mai puțin eficace decît cele „tîrzii". Reiese că afinitatea receptorului celular pentru antigen crește pe parcursul imunizării.

Separarea celulelor imunologic competente de pe coloană pune probleme tehnice dificile, deoarece simpla agitare mecanică în mediul de cultură nu poate desface legăturile în care aviditatea anticorpului pentru antigen e mare și distruge o parte din celulele imunologic competente. Metoda pune la dispoziția cercetării un material celular omogen funcțional, extrem de util pentru studii ulterioare.

Toate aceste date demonstrează realitatea conceptului de receptor imunoglobulinic celular pentru antigen.

BIBLIOGRAFIE

1. *Battin J.* (1970) — La prevention de la maladie hémolytique. Rhésus par la gammaglobuline anti-*D*, *Les Cahiers de méd.*, 11 : 13, 1 099.
2. *Cerotini I. C., Patricia J. McConaley, Dixon F. J.* (1969) — The immunosuppressive effect of passively administrated antibody *IgG* fragments. *The J. of Immunol.*, 102, 4, 1 008.
3. *Ryder R. J. W., Schwartz R. S.* (1969) — Immunosuppression by antibody: localization of site of action. *The J. of Immunol.*, 103, 5, 970.
4. *Strannegärd O., Belin L.* (1970) — Suppression of reagin synthesis in rabbits by passivelly administered antibody. *Immunol.*, 18, 5, 775.
5. *Wigzell H.* (1969) — Use of humoral or cell bound antibody to active depression of immunological reactivity in the immune response and its suppression (Symposium 1968). E. Sorkin (ed.), *Antibiotica and chemotherapia*, vol. 15, p. 82 (Korgh, Basel, New York).

Scanned with OKEN Scanner

PARTEA
A III-A

PRACTICA IMUNOSUPRESIEI

Scanned with OKEN Scanner

GENERALITĂȚI

Indicațiile actuale ale terapiei de imunosupresie pot fi grupate în două categorii:

1. homotransplantele;

2. boli care se datoresc total sau parțial unei reacții autoimune sau altor forme de reacții imunologice (de exemplu, izoimunizarea Rh).

Termenul de „imunosupresie" este impropriu stării clinice realizate, noțiunea corectă fiind „imunodepresie". Aceasta e realizată și în unele condiții naturale: în hipo- sau agammaglobulinemie (Good, 1954) și la gravide (Heslop și colab., 1954), în uremie, unele infecții, sindroame neoplazice (vezi 10).

După cum am arătat anterior, mijloacele imunosupresive pot fi specifice sau nespecifice, obiectivul lor constituindu-l micșorarea reactivității organului față de un antigen (mijloace specifice) sau față de orice componentă antigenică reprezentînd un *non-self* (mijloace nespecifice).

Imunosupresia specifică se poate realiza experimental, fie administrînd antigen (în acest caz, primește numele de toleranță imună specifică sau paralizie imunologică), fie administrînd anticorpi (10). În clinică există actualmente o singură situație în care e posibilă realizarea imunosupresiei specifice, și anume prin administrare de anticorpi și inhibarea *feedback*-ului (4): în profilaxia izoimunizării mamelor Rh-negative care nasc copii Rh-pozitivi, răspunsul imun primar este suprimat administrînd — înaintea stimulului antigenic — mari cantități de anticorpi anti-*D* sau γ-globuline (Finn și colab., 1961).

Imunosupresia nespecifică se obține parțial prin distrugerea brutală a celulelor sistemului limforeticular, cu mijloacele enumerate în capitolele anterioare. Dozele care realizează în clinică efecte imunosupresive certe sînt periculoase, ceea ce restrînge aplicarea acestui tratament la cazurile de importanță vitală.

Scanned with OKEN Scanner

Cele două indicații clinice ale terapiei imunosupresive nespecifice (homotransplantele și bolile autoimune) se disting prin cîteva particularități. În transplantele de organe e posibil un tratament profilactic care să prevină răspunsul imun primar (reacția de respingere), atît prin metode imunosupresive, cît și prin selecția donatorilor pe baza compatibilității și intoleranței antigenice cu receptorul. În bolile autoimune trebuie controlată sau abolită o reacție deja declanșată de un antigen în general necunoscut. Cu toate acestea se obțin beneficii în boli autoimune cu doze de agenți imunosupresivi aproape homeopatice, în comparație cu cele administrate receptorilor de transplante. Aceste succese nu îndreptățesc părerea că am cunoaște mecanismul care a produs efectul dorit (10).

În transplante, imunosupresoarele sînt obligatorii pentru supraviețuire și există criterii certe de urmărire a imunosupresiei, deoarece procesul imun provoacă o reacție de respingere acută sau cronică a grefei, cu aspecte anatomopatologice caracteristice și semne clinice și de laborator concordante. În schimb, într-o boală în care există procese autoimune, acestea nu o declanșează și/sau nu o întrețin totdeauna. Uneori ele reprezintă factori asociați, fără semnificație patogenică (de exemplu, în infarctul miocardic).

Reacțiile imunologice care evidențiază procesele autoimune nu se modifică paralel cu starea clinică, de obicei rămînînd nemodificate de dozele imunosupresive care duc la o remisiune a simptomelor și a evoluției bolii. De aceea, prezența unui proces autoimun (a autoanticorpilor) nu reprezintă o indicație a terapiei imunosupresive decît dacă reacțiile imune intervin în declanșarea sau întreținerea bolii și dacă efectele secundare, nocive, ale agenților imunosupresivi reprezintă un risc vital mai mic decît evoluția bolii tratate numai cu metodele tradiționale. De exemplu, în anemia pernicioasă Addison—Biermer, mecanismul patogen este probabil un proces autoimun; vitamina B_{12} vindecă însă complet boala, fără a provoca efecte secundare, astfel că terapia imunosupresivă nu-și are rostul. În artrita reumatoidă, repausul, salicilații și fenamații (indometacinul, acidul mefenamic, fenilbutazona), aurul, antimalaricele atenuează cert tulburările articulare; corticoterapia se utilizează numai în caz de insuficiență a acestor metode, iar antimitoticele, în caz de corticorezistență, corticodependență sau forme clinice severe cu pericol *quo ad vitam*. Ameliorarea clinică sub tratament cortizonic sau cu azatioprină nu e însoțită de modificări semnificative în ce privește titrul factorului reumatoid seric.

Deci, deși terapia imunosupresivă a depășit de mult stadiul experimental, utilizarea ei în clinica bolilor imune impune o apreciere atentă a alternativelor și a indicațiilor, fiind obligatorie numai în transplantarea organelor.

Utilizarea terapiei imunosupresive în clinică a început cu iradierea totală a pacienților supuși transplantării renale. Cu această metodă, la Paris (Hamburger și colab.) și la Boston (Merril și colab.) au fost rupte, în anul 1959, barierele imunologice și s-au realizat cu succes primele transplante de organe (de rinichi) între indivizi neidentici (gemeni) (5, 7). La puțin timp după aceea, Starzl a introdus în clinica transplantelor chimioterapia imunosupresivă (6-mercaptopurina) (8), utilizată și în terapia

Scanned with OKEN Scanner

bolilor autoimune (Dameshek, Schwarz, 1960). Calne (1960) a fost primul care a folosit azatioprina (1), actualmente cel mai folosit imunosupresor, alături de prednison. Teoretic, acțiunea mijloacelor imunosupresive menționate ar consta în distrugerea celulelor imunocompetente ale organismului. Aceasta a dus la descoperirea altor metode de imunodepresie, cu rol adjuvant: timectomia, splenectomia, drenarea limfocitelor din canalul toracic, iradierea extracorporală a limfei sau a sîngelui (vezi *Partea a doua*). Cu același scop, Woodruff a preparat serul antilimfocitar și a fost inițial decepționat că acesta nu are efectele limfopenizante scontate. Curînd, tot Woodruff (1963) arată că eficiența serului antilimfocitar în atenuarea reacțiilor imune (de exemplu, pentru a prelungi supraviețuirea grefei) este relativ independentă de efectul său limfopenizant (9). Starzl a introdus în clinică acest mijloc imunosupresiv de mare perspectivă, pentru a preveni respingerea grefelor și a putea reduce dozele mari de azatioprină și prednison, cu efecte secundare periculoase (8). Actualmente, serul antilimfocitar este aplicat și în unele boli autoimune (de exemplu, în glomerulonefrite cronice, în hepatita cronică activă).

În viitor vor apărea probabil alte metode imunosupresive specifice sau, în orice caz, care să realizeze protecția organismului împotriva reacțiilor imunologice dăunătoare, fără să scadă capacitatea de apărare a organismului împotriva infecțiilor și fără să afecteze imunitatea dobîndită.

BIBLIOGRAFIE

1. *Calne R. Y.* — The rejection of renal homografts. Preliminary communication. *Lancet* 1, 1960, 417.
2. *Dameshek W., Schwartz R.* — Treatment of certain autoimmune diseases with antimetabolites. *Trans. Ass. Amer. Physis.*, 1960, 72, 113.
3. *Finn R., Clarke C., Donohoe W., McConnell R., Sheppard P., Lehame D., Kulke W.* — Experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease. *Brit. Med. J.*, 1961, 1: 1 468.
4. *Gell P. G. H., Coombs R. R. A.* — Introductory chapter, *in:* P. Gell, R. Coombs — Clinical aspects of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, XXI—XXVI.
5. *Hamburger J., Vaysse J., Crosnier J., Tubiana M., Lalanne C. M., Antoine B., Auvert J., Soulier J. P., Dormont J., Salmon Ch., Maisonnet M., Amiel J. P.* — Transplantation d'un rein entre jumeaux non-monozygotes après irradiation du receveur. Bon fonctionnement au quatrième mois. *Presse méd.*, 1959, 67, 177.
6. *Mackay I. R., Burnet F. M.* — Autoimmune diseases, Pathogenesis, Chemistry and Therapy. Springer, Illinois; Charles C. Thomas, 1964, 344 p.
7. *Merril J. P., Murray J. E., Harrison J. H., Friedman E. A., Dealy J. B., Dammin G. J.* — Successful homotransplantation of the kidney between non-identical twins. *New Engl. J. Med.*, 1960, 262, 1 251.
8. *Starzl T. E.* — Experience in renal transplantation, Saunders Co., Philadelphia, 1964.
9. *Woodruff M. F. A., Anderson N. F.* — The effect of lymphocyte depletion by thoracic duct fistula and administration of antilymphocytic serum on the survival of skin homografts in rats *Nature*, 1963, *200*, 702.
10. *Woodruff M. F. A.* — Immunosuppression and its complications. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1969, 62, 4: 411.

Scanned with OKEN Scanner

1

BAZELE IMUNOLOGICE ALE BOLILOR DE AUTOAGRESIUNE NECESITATEA TERAPIEI IMUNOSUPRESIVE ÎN CLINICA MEDICALĂ

În capitolul de față vom prezenta cîteva dintre argumentele pe baza cărora se susțin necesitatea terapiei imunosupresive și intervenția proceselor autoimune în patogenia unor boli, plecînd de la criteriile stabilite de McKay și Burnet (1963) (vezi tabelul V și *Partea întîi, capitolul* 5).

POLIARTRITA REUMATOIDĂ

Boală sistemică afectînd de predilecție articulațiile, mai frecventă net la femei (♀/♂=4/1) și cu o anumită predispoziție familială. Diagnosticul impune o netă diferențiere de poliartritele din numeroase alte boli, de exemplu, din lupusul eritematos diseminat, sarcoidoză, colita ulceroasă, psoriazis. Criteriile de diagnostic, general acceptate actualmente, sînt cele elaborate de Asociația reumatologică americană.

Argumente asupra mecanismelor patogenice autoimune:

1. Anatomopatologic, dintre modificările membranei sinoviale a articulațiilor afectate, cea mai izbitoare este *infiltrația densă cu plasmocite și limfocite*, agregate în structuri foliculare, uneori cu centri germinativi. În sindromul Still (poliartrită reumatoidă la bolnavi sub 16 ani) sînt comune splenomegalia și hiperplazia întregului țesut limfoid. În varianta reprezentată de sindromul Felty, adenopatia și splenomegalia domină tabloul clinic și sînt însoțite de semne de hipersplenism. Nodulii reumatoizi subcutanați, care se dezvoltă în punctele de presiune sau fricțiune și sînt histologic aproape patognomonici pentru poliartrita reumatoidă, conțin în zona periferică infiltrate celulare limfo-plasmocitare. Există dovezi directe că unele plasmocite produc factori reumatoizi (38), iar limfocitele sensibili-

Scanned with OKEN Scanner

zate se presupune că mediază reacțiile imunologice celulare și mecanismul efector de tipul hipersensibilității întîrziate, responsabil de patogenia poliartritei reumatoide.

2. *Factorul reumatoid* este o macroglobulină, prezentă la 80% din bolnavii cu poliartrită reumatoidă, care prin imunoelectroforeză, cromatografie și ultracentrifugare s-a dovedit a fi din clasa imunoglobulinelor *M* (mai rar a imunoglobulinelor *G* sau *A*), cu coeficient de sedimentare 19 S, cu tendința de a forma complexe 22 S prin combinare cu cîteva molecule mici de γ-globuline (cu coeficient de sedimentare 7 S) (16). Acest factor are proprietatea de a aglutina sau precipita γ-globulinele umane denaturate (7 S), γ-globulinele de alte specii cu reactivitate încrucișată și complexele antigen-anticorp. (Agregarea crește reactivitatea γ-globulinelor umane la factorul reumatoid, dar nu este o cerință absolută a reacției, cum ar fi denaturarea.) Reacția factorului reumatoid cu γ-globulinele umane a determinat încadrarea lui între autoanticorpi, concepție larg răspîndită, dar nu acceptată universal (vezi contraargument în 16).

a) Factorul reumatoid poate fi identificat prin numeroase teste care utilizează γ-globuline de la alte specii (de exemplu, hematii de oaie tratate cu ser antioaie preparat pe iepure (testul Waaler—Rose), sau preparat pe cobai (testul Foz și colab.), sau pe cal (testul Hobson și colab.); sau sînt folosite γ-globulinele umane denaturate, de exemplu brucele tratate cu aglutinine umane incomplete (Foz; Batalla), eritrocite de grupa *ORhD*+ tratate cu antiser incomplet anti-*D* (Waaler, Vaughan), eritrocite de oaie tratate cu γ-globuline umane (Jacobson și colab.) și, în sfîrșit, cunoscutul test al latexului pretratat cu fracțiunea Cohn II a serului uman). Denaturarea γ-globulinelor umane (fracțiunea II Cohn) crește capacitatea de reacție, iar testele de inhibiție arată că reactantul conține doi factori: unul specific γ-globulinelor umane, iar al doilea cu reactivitate încrucișată cu alte animale.

În plus, unele seruri reumatoide reușesc să facă o distincție între γ-globulinele homologe de la diverși oameni, stabilind alotipurile *Gm* (*a*+) (indivizi al căror ser inhibă aglutinarea eritrocitelor sensibilizate cu ser incomplet anti-*D* de către serul reumatoid) și alotipul *Gm* (*a*—) (indivizi fără capacitate inhibitoare). Aceste date sînt interesant de menționat, deoarece așa-zisa lipsă de specificitate a factorului reumatoid a fost utilizată drept argument împotriva naturii sale anticorpice.

b) Factorul reumatoid este decelat cu testele clasice (Waaler-Rose și testul latexului) la numai 70—80% din bolnavii cu poliartrită reumatoidă și la 2—5% din subiecții nereumatici. (Exemplu: la 30% din bolnavii cu lupus eritematos; în sarcoidoză, în hepatită; dar nu în colita ulceroasă, artrite, psoriazis și spondilita ankilopoetică.)

Titruri joase de aglutinare se găsesc adesea în serul normal (la 17—40% din adulți).

Aceste date, folosite drept contraargumente ale naturii anticorpice a factorului reumatoid, au însă altă explicație. Factorul reumatoid fiind un anticorp la γ-globuline denaturate, acestea sînt antigene la care majoritatea adulților sînt expuși în cursul vieții. Denaturarea γ-globulinelor proprii apare ca urmare a acțiunii unui antigen specific (de exemplu, an-

Scanned with OKEN Scanner

tigen infecţios în bronşita cronică). Predispoziţia genetică joacă aici un rol important.

Absenţa factorului reumatoid la 20% din bolnavii cu poliartrită reumatoidă este contestată de autorii care utilizează metode moderne de izolare, urmate de testarea prezenţei factorului reumatoid. Astfel, Bluestone şi colab. (1969) găsesc un factor reumatoid ascuns în eluatul imunoglobulinelor M a trei bolnavi cu poliartrită reumatoidă nodulară seronegativă, iar Torrigiani şi colab. (1970) găsesc concentraţii crescute de imunoglobuline *G*-antiglobuline la toţi pacienţii cu poliartrită cronică evolutivă „seronegativă" (5; 55).

Pe de altă parte, Ziffe şi colab. au arătat, din 1956, că la 96% din populaţie factorii din serul normal (fracţiunea euglobulinică) inhibă reacţia Waaler-Rose; absenţa acestei activităţi inhibitoare caracterizează 100% din cazurile cu poliartrită cronică evolutivă. Se poate conchide că activitatea inhibitoare din fracţiunea γ a serului uman este dată de cantităţi mari de reactant liber (16), care poate să apară şi la indivizi normali şi poate masca reacţiile de aglutinare la 20—30% din bolnavii reumatici. Mecanismul patogenic în poliartrita cronică evolutivă seronegativă nu pare să difere faţă de poliartrita cronică evolutivă seropozitivă.

c) Tradiţional se considera că factorul reumatoid seric apare tardiv în cursul bolii, fiind deci consecinţa, nu cauza ei. Mai recent, De Forest şi colab. (15), dovedesc că apariţia factorului reumatoid în circulaţie e un fenomen precoce, nu tardiv, şi că poate să preceadă cu mulţi ani debutul clinic al bolii.

d) Studiul localizării tisulare a factorului reumatoid arată o concentraţie maximă în ţesuturile cele mai lezate în poliartrita reumatoidă sau în alte boli în care este evidenţiat. Astfel, date histo-imunologice (care utilizează drept reactanţi γ-globuline umane denaturate prin căldură, tratate cu fluoresceinizocianat, şi complexe antigen-anticorp conjugate cu fluoresceină) arată prezenţa factorului reumatoid în membrana şi lichidul sinovial, în nodulii subcutanaţi reumatismali şi în ganglionii limfatici, şi anume în plasmocite (38) la bolnavii cu poliartrită cronică evolutivă. În cazurile în care există factorul reumatoid seric în alte boli, acesta apare de asemenea în organele cele mai afectate de boală, în măduva osoasă în macroglobulinemia Waldenström, în ficat în hepatite, în spută în bronşita cronică, în ganglionii limfatici în boala Hodgkin etc.

Aceste date susţin ipoteza unei stimulări antigenice locale, probabil sub forma unei imunoglobuline *G* adecvat denaturate, care determină producţia de factor reumatoid şi reacţia cu acest autoanticorp. Complexele locale imunoglobulină *G* — factor reumatoid, la care se ataşează complementul, sînt insolubile, deci persistente. Ele au chimiotactism pozitiv pentru leucocitele care le fagocitează şi eliberează lizozomi şi enzime hidrolitice, provocînd reacţia inflamatoare locală (19), distrugerea progresivă a cartilajului şi denaturarea γ-globulinelor care întreţin cercul vicios.

In concluzie, în poliartrita reumatoidă, ca şi în alte boli cu mecanisme patogenice autoimune (lupus eritematos, sarcoidoză, hepatită

Scanned with OKEN Scanner

cronică etc.), apare factorul reumatoid, care reprezintă foarte probabil un autoanticorp față de γ-globulinele umane denaturate.

Nu se știe în ce măsură intervine acest autoanticorp umoral în patogenia poliartritei reumatoide (în inițierea sau în perpetuarea leziunilor) sau exprimă, mai probabil, tipul reactivității imunologice a bolnavului respectiv. Dacă poliartrita reumatoidă este de natură autoimună, atunci indivizii cu cea mai mare tendință de a reacționa imunologic la propriile proteine alterate, deci cu nivelul cel mai mare de factor reumatoid, vor face mai frecvent boala (fenomen observat în clinică).

Incidența crescută a factorului reumatoid în stadiile inițiale ale poliartritei cronice evolutive, adesea precedînd manifestarea clinică, decelarea frecventă a factorului reumatoid la rudele bolnavilor, corelația netăgăduită cu poliartrită cronică evolutivă pledează puternic pentru asocierea acestui autoanticorp mai mult cu cauza bolii decît cu efectele ei. Totuși, factorul reumatoid nu pare implicat direct în patogenia poliartritei reumatoide (nici anticorpul circulant, nici plasmocitele care îl generează). Transferul de ser cu titruri înalte de factor reumatoid nu influențează indivizii normali sau cu poliartrită cronică evolutivă și nici serurile puternic inhibitoare (Vaugham și colab., 1959; Ziff și colab., 1956) (16). Singura corelație clinică bine stabilită este între prezența factorului reumatoid și a nodulilor subcutanați (Ball, 1952, citat de 16), ca și prognosticul mai sever al poliartritei cronice evolutive seropozitive; în rest, simptomatologia clinică a bolii este independentă de prezența și titrul factorului reumatoid.

După cum am arătat, în procesul de întreținere a leziunilor articulare, reacția dintre proteinele denaturate de procesele inflamatoare locale (eventual și de procese traumatice, infecțioase, metabolice) și factorul reumatoid poate contribui la autoîntreținerea bolii. Date experimentale arată efectul injectării locale, intraarticulare, a proteinelor denaturate. De fapt, fibrina reușește mai mult decît γ-globulinele să inducă artrite asemănătoare cu cea din poliartrita cronică evolutivă, deci factorul reumatoid este probabil și în acest caz numai un indicator al unei reactivități imunologice alterate.

Intervenția directă a anticorpilor umorali în patogenia poliartritei cronice evolutive este negată de existența leziunilor tipice de poliartrită reumatoidă la copii cu agammaglobulinemie congenitală (Gitlin și colab., 1969) (citat de 16).

Patogenia poliartritei cronice evolutive trebuie explicată prin reacții imunologice mediate celular, prin limfocite sensibilizate.

3. În afară de factorul reumatoid, la bolnavii cu poliartrită reumatoidă apar și alți autoanticorpi: anticorpi antifibrină, anticolagen, factori antinucleari în 14—50% din cazuri (16) (evidențiați de testul celulelor LE și prin imunofluorescență). Anticorpii aceștia nu sînt îndreptați împotriva unei singure componente nucleare, ci includ acidul dezoxiribonucleic, proteina acidului dezoxiribonucleic, histone nucleare, alte proteine nucleoplasmatice.

Ca și factorul reumatoid, acești autoanticorpi umorali sînt indicatori ai tulburărilor imunologice caracteristice poliartritei cronice evolu-

Scanned with OKEN Scanner

tive, intervenţia lor directă în mecanismele patogene fiind incertă. Totuşi, cazurile de poliartrită cronică evolutivă cu testul celulelor lupice pozitive prezintă mai frecvent unele manifestări extraarticulare, şi anume: arterite, nevrite periferice, leziuni fibroase pulmonare.

4. Nivelul complementului este considerabil mai mic în exsudatele reumatoide cronice decît în alte tipuri de inflamaţii sinoviale. În sinoviala articulaţiilor, în ganglionii limfatici, în nodulii reumatici există complexele factor reumatoid-imunoglobulină *G* denaturată care fixează complementul (tehnici imunofluorescente).

5. Electroforetic, hipergammaglobulinemia este prezentă alături de creşterea α_2-globulinelor.

6. Poliartrita reumatoidă apare anormal de frecvent asociată cu alte boli autoimune, cum ar fi tiroidita Hashimoto (62).

7. Experimental se pot provoca animalelor artrite care să semene în oarecare măsură cu poliartrita reumatoidă umană, injectînd intraarticular fibrină, exsudat inflamator şi mai ales injectînd intradermic, la o tulpină selectată de şobolani, adjuvant Freund. Această din urmă poliartrită e cronică, recidivantă, prevenită de corticoterapie şi iradiere sau excizarea ganglionilor limfatici şi poate fi transferată la aceeaşi tulpină de şobolani prin celule splenice (44). Nu este însoţită însă de factorul reumatoid.

8. Răspunsul la corticoterapie sau alte imunosupresive este prompt în poliartrita cronică evolutivă la om.

Pe baza acestor date se consideră actualmente că în patogenia poliartritei reumatoide joacă un rol important procesele autoimune, contribuind la perpetuarea leziunilor, gravitatea bolii şi eventual la iniţierea ei. O cauză iniţială necunoscută (infecţie? tulburare metabolică?) poate declanşa un proces imun, cu formarea unor complexe antigen-anticorp în spaţiul articular (5 bis). La o persoană cu ereditate corespunzătoare, leziunile locale şi denaturarea γ-globulinelor constituie un stimul autoantigenic pentru reacţii imune celulare de tipul hipersensibilităţii întîrziate, cu rol major în evoluţia bolii (după cum arată modelele experimentale analoge) (44). Apar în acelaşi timp răspunsuri imune umorale mediate prin autoanticorpi. Reacţiile imunologice locale determină eliberarea unor produse inflamatoare şi distrugerea locală a lizozomilor, autoîntreţinînd procesul patologic prin denaturarea proteinelor. Pentru întreruperea cercului vicios se impune un tratament adecvat antiinflamator şi imunosupresiv.

Mijloacele imunosupresive utilizate în poliartrita cronică evolutivă sînt: *1)* corticoterapia; *2)* antineoplazicele: 6-mercaptopurina, azatioprina, tioguanina, metotrexatul, aminopterina, ciclofosfamida, clorambucilul, actinomicina *C*, şi mai demult azot-iperita; *3)* serul antilimfocitar a fost aplicat cu rezultate încurajatoare numai în artrita reumatoidă experimentală; *4)* de menţionat că chirurgii adepţi ai sinovectomiei instrumentale sau chimice susţin că acestea ar fi metode imunosupresive, deoarece îndepărtează ţesutul de granulaţie reumatoid cu rol autoantigenic. Îndepărtarea sinovialei inflamate din articulaţie înlătură durerea, însă nu

Scanned with OKEN Scanner

e dovedit dacă se întrerupe astfel veriga patogenică și dacă se opresc tulburările articulare (59).

Indicațiile terapiei imunosupresive în artrita reumatoidă, dozele de atac și de întreținere, criteriile de conducere a tratamentului, rezultatele și efectele secundare sînt expuse pe larg în *Partea a treia, capitolul 3* (unde se află și bibliografia), iar mijloacele imunosupresive, în *Partea a doua*. Subliniem că principiile corticoterapiei în clinica medicală, ale tratamentului cu antineoplazice în bolile autoimune, au fost stabilite în primul rînd pe baza experienței acumulate în tratamentul artritei reumatoide.

Actualmente, corticoterapia este indicată în poliartrita cronică evolutivă cînd repausul, salicilații, aurul și antimalaricele de sinteză n-au dat rezultate (Savage, 1969), sau în formele severe ale bolii. Numai ultimele necesită doze mari, imunosupresive, de derivați cortizonici. În rest, dozele utilizate sînt mici, iar tratamentul de lungă durată. Eficiența corticoterapiei e netă în ameliorarea stării clinice a bolnavilor cu poliartrită cronică evolutivă.

Eficacitatea antineoplazicelor în artrita reumatoidă e încă în studiu. Ele se administrează rareori singure. De obicei se asociază corticoizilor în formele corticorezistente sau corticodependente. Azatioprina, metotrexatul, ciclofosfamida, clorambucilul reduc necesarul de corticoizi, fenomen confirmat pentru azatioprină (administrată 12 luni în doză de 2,5 mg/kilocorp) prin testare cu metoda dublu oarbă (Mason, 1969) (29). Rolul antineoplazicelor la bolnavii care nu primesc corticoizi nu e precizat, deși o serie de autori citează ameliorări în 70,4% din cazuri (vezi tabelul XIX), nici antineoplazicul de elecție în poliartrita cronică evolutivă. Calea intraarticulară (utilizată pentru tiotepa) nu dă ameliorări clinice superioare comparativ cu martorii cărora li s-a injectat procaină intraarticular (Zuckner, 1966), iar împuținarea fagocitelor, afirmată de unii autori, mai e controversată.

În concluzie, artrita reumatoidă beneficiază în anumite forme de terapia imunosupresivă, fiind necesare studii mai ample pentru a preciza locul și limitele acestei terapii.

LUPUSUL ERITEMATOS DISEMINAT

Este o boală complexă, cu leziuni diseminate, cutanate, articulare, renale, în seroase, cord, vasele sanguine și celulele sanguine.

Experimental e cunoscută nefrita spontană autoimună a șoarecilor din tulpina *NZB/BL*, similară histologic nefritei lupice și cu depozite glomerulare de imunoglobulină *G* și acid dezoxiribonucleic.

1. Histologic, leziunile primare sînt ale țesutului conjunctiv, cu aspect de necroză fibrinoidă, considerate de unii autori drept expresia unui răspuns alergic din partea țesutului conjunctiv (23).

Uneori se observă corpi hematoxifilici, cu diametrul de cîteva sute de microni, patognomonici sindromului, formați din material nuclear alterat. Reprezintă expresia tisulară a alterării nucleilor celulari, care determină *in vitro* formarea celulelor LE, fenomenul Hargraves (1948), dependent de autoanticorpii antinucleari serici.

2. În lupusul eritematos diseminat există numeroase tipuri de autoanticorpi: factori serici, de natură γ-globulinică, îndreptați împotriva unor componente ale nucleului sau altor antigene celulare neorganospecifice, și anume:

a) Autoanticorpii împotriva complexului acid dezoxiribonucleic-histonă sînt 7 S γ-globuline (dar și 19 S), din clasa imunoglobulinelor *G*, dar și imunoglobuline *A* și *M*, prezente în 100% din cazurile de lupus eritematos diseminat și responsabili de fenomenul celulelor lupice și de evidențierea prin imunofluorescență a factorilor antinucleari. Date mai recente arată o oarecare independență între factorii antinucleari evidențiați prin imunofluorescență și testele directe (utilizînd sîngele total al bolnavului) și indirecte (serul bolnavului în contact cu leucocite normale) de evidențiere a celulelor lupice. Anticorpii antidezoxiribonucleoproteine atacă nucleii celulelor din toate țesuturile bolnavului (exceptînd capul spermatozoizilor adulți de mamifere, care conține acid dezoxiribonucleic-protamină în loc de acid dezoxiribonucleic-histonă), țesuturile altor indivizi normali sau bolnavi, sau de la alte specii.

Fenomenul celulelor LE apare și în alte boli considerate autoimune: în colagenoze (sclerodermie, dermatomiozită), în hepatita „lupoidă".

Metodele cu imunofluorescență decelează factori antinucleari în 25—35% din poliartritele reumatoide (într-un titru mai scăzut decît în lupusul eritematos diseminat și de natură predominant imunoglobuline *M*), în 35% din lupusurile eritematoase discoide, în sindromul Sjögren (88% din cazuri), în miastenia gravă (10% din cazuri), în hepatita activă cronică, ciroza biliară primitivă și ciroza criptogenetică, în lupusul iatrogen provocat de hidralazină, antiepileptice și procainamidă.

b) Anticorpi fixatori de complement îndreptați împotriva altor constituenți nucleari:

— antiacid dezoxiribonucleic, prezenți în cazuri de lupus eritematos diseminat grav netratat (66%), cu complicații renale și prognostic sever. Dispar în cursul remisiunii. Apar în alte boli autoimune, ca: poliartrita reumatoidă, miastenia gravă, sindromul Sjögren;

— antihistone;

— antinucleolari (acid ribonucleic nuclear), foarte frecvenți, față de ceilalți factori antinucleari în sclerodermie.

c) Autoanticorpi împotriva constituenților citoplasmei celulare:

— sînt imunoglobuline *G* sau *M* care dau testul autoimun de fixare a complementului Gajdusek cu antigene citoplasmatice hepatice, apar în lupusul eritematos diseminat, macroglobulinemie, hepatita infecțioasă și mai ales în hepatita cronică activă („lupoidă");

— mai cunoscuți sînt anticorpii M îndreptați împotriva mitocondriilor din celulele cu metabolism activ (ficat, tubi contorți distali, celule parietale gastrice). Anticorpii *M* sînt frecvenți mai ales în ciroza biliară primară;

— hemaglutinine împotriva eritrocitelor de oaie tratate cu extract de colon sau ficat uman; sînt frecvente în colita ulceroasă și lupusul eritematos diseminat;

Scanned with OKEN Scanner

— autoanticorpi care dau un test Wassermann fals pozitiv, datorită antigenului cardiolipinic, larg răspîndit la multe specii, inclusiv la om. Sînt adesea asociaţi cu autoanticorpi anticoagulanţi.

d) Autoanticorpi împotriva celulelor sanguine:

— anticorpi antieritrocitari (10% din cazurile de lupus eritematos diseminat), globuline de tipul „anticorpilor la cald" citotoxice; uneori declanşează o anemie hemolitică;

— anticorpi antileucocitari (antilimfocitari);

— anticorpi antitrombocitari.

e) În sfîrşit, 30% din cazurile de lupus eritematos diseminat dau testul Waaler-Rose — pentru anticorpi anti-γ-globulinici — pozitiv.

Ca şi în cazul poliartritei cronice evolutive, s-ar putea ca autoanticorpii din lupusul eritematos diseminat să nu fie responsabili direct de leziunile tisulare. Antigenele împotriva cărora sînt îndreptaţi sînt intracelulare şi protejate în mod normal de membrana celulară, deci reacţiile imune nu pot avea loc decît în celule moarte sau deja lezate, contribuind la întreţinerea, nu la iniţierea bolii. Numai anticorpii antieritrocitari pot acţiona citotoxic direct, deoarece reacţionează cu suprafaţa celulară. Există şi alternativa ca autoanticorpii neorganospecifici existenţi în lupusul eritematos diseminat să nu apară ca o consecinţă a lezării membranei bazale celulare cu eliberarea şi (sau fără) degradarea componentelor intracelulare, ci printr-o anomalie moştenită sau dobîndită a sistemului limfoid cu hiperproducţie de plasmocite şi γ-globuline anormale. Astfel, McKay (1966) (citat de 23) menţionează o displazie timică în 9 cazuri de lupus eritematos diseminat în care timusul era mic, fără ţesut limfoid, conţinînd o acumulare de celule epiteliale. În splină apare o fibroză la nivelul corpusculilor Malpighi, cu semnificaţie funcţională necunoscută.

3. Lupusul eritematos este adesea asociat cu alte boli autoimune. Wanebo şi colab. (1969) citează un lupus eritematos diseminat complicat cu un sindrom Chiari-Frommel şi cu o tiroidită autoimună (58). Anemia autoimună hemolitică e frecvent asociată.

4. Autoanticorpii din lupusul eritematos diseminat sînt relativ independenţi de simptomele şi severitatea bolii, cu cîteva excepţii:

— anemia hemolitică este produsă de anticorpii antieritrocitari;

— anticorpii antiacid dezoxiribonucleic apar numai în formele acute ale bolii şi dispar în remisiuni. În serul bolnavilor cu lupus eritematos diseminat, în perioada febrilă apare acidul dezoxiribonucleic;

— există argumente că leziunile renale ar fi produse printr-un mecanism efector imun de tipul III, prin complexe antigen-autoanticorp fixatoare de complement, care se depozitează la nivelul glomerulilor renali.

În leziunile glomerulare renale, tehnici de imunofluorescenţă au evidenţiat complexe γ-globulinice (inclusiv anticorpi antinucleari) şi complement legat imunologic de membrana bazală glomerulară. În ser, în caz de hiper-γ-globulinemie, nivelul anticorpilor antinucleari şi antiacid dezoxiribonucleic este crescut, iar nivelul complementului scăzut. Evoluţia spre vindecare a glomerulonefritei lupice cu doze adecvate de

Scanned with OKEN Scanner

corticoizi şi cu antineoplazice arată că la patogenia atingerii renale participă reacţii autoimune şi constituie baza ştiinţifică pentru prescrierea acestor medicamente imunosupresive.

*

Metodele imunosupresive utilizate în lupusul eritematos diseminat sînt corticoterapia şi antineoplazicele. Dintre acestea au fost utilizate: azatioprina, 6-mercaptopurina, tioguanina, metotrexatul, ciclofosfamida, actinomicina *C*, singure, asociate sau alternativ. În 1969, Nossa, Mureşan, Marcu şi Abrudeanu au utilizat pentru prima oară globulină antilimfocitară, preparată în România, după o metodă originală, în terapia lupusului eritematos.

Criteriile de conducere a tratamentului sînt clinice şi biologice. Nu există deocamdată criterii imunologice concordante de urmărire a eficacităţii terapiei. Atenuarea simptomatologiei în 71,3% din cazurile tratate cu antineoplazice (vezi tabelul XIX) este un rezultat încurajator, însă cu rezerva numărului mic de cazuri investigate şi absenţa loturilor martor.

Pentru principiile de administrare şi detalii asupra terapiei imunosupresive vezi *Partea a treia, capitolul 3.*

SCLERODERMIA ŞI DERMATOMIOZITA

În *sclerodermie,* caracterizată prin depuneri de colagen în piele şi ţesuturile afectate, există puţine dovezi histologice asupra intervenţiei ţesutului limfoid. Membranele sinoviale ale articulaţiilor afectate pot prezenta slabe infiltraţii limfoplasmocitare.

Hiper-γ-globulinemia moderată (peste 2 g%) există în aproximativ 50% din cazuri.

Dintre autoanticorpii serici sînt prezenţi factorii antinucleari (testul celulelor LE poate fi pozitiv, iar prin imunofluorescenţă apar factori antinucleari în majoritatea cazurilor de sclerodermie). După unii autori ar fi caracteristică sclerodermiei predominanţa anticorpilor antinucleari, antiacid ribonucleic (neconfirmat de 23).

Dermatomiozita, colagenoză cu leziuni cutanate, musculare şi vasculare, e caracterizată histologic prin degenerări de fibre musculare şi necroză, însoţite de infiltraţie limfo-plasmocitară interstiţială.

Nu au putut fi evidenţiaţi autoanticorpi antimusculari de tipul celor din miastenia gravă sau din polimiozite. În schimb, o parte din cazuri conţin factori antinucleari evidenţiabili prin metoda imunofluorescenţei Coon.

Terapia imunosupresivă cu corticoizi atenuează moderat simptomatologia clinică (pentru bibliografie vezi capitolul următor). Beickert şi colab. (1968) utilizează într-un caz de dermatomiozită antineoplazice (6-mercaptopurină 100 mg/zi şi metotrexat 50 mg/săptămînă) asociate prednisonului, fără să obţină rezultate pozitive. Acelaşi autor semnalează o întîrziere discretă a procesului patologic de-a lungul unui tratament de 431 de zile într-un caz de sclerodermie cu 6-mercaptopurină

Scanned with OKEN Scanner

(100 mg/zi), alternînd cu metotrexat (2,5 mg/zi, cîte 3 săptămîni la 5 luni de mercaptopurină). Cu azatioprină, Miescher și colab. (1969) au reușit să stabilizeze doi pacienți cu dermatomiozită și să obțină atenuarea simptomelor într-un caz de sclerodermie. Brendel (1971) comunică remisiuni după globuline antilimfocitare.

Datele sînt prea sărace pentru a se putea trage o concluzie.

REUMATISMUL ARTICULAR ACUT

Boală infecto-alergică frecventă, are un mecanism patogenic în care pot interveni procese autoimune. Întrucît streptococul β-hemolitic, agentul cauzal al bolii, nu acționează direct și nici prin exotoxinele sale, manifestarea clinică a bolii cere o perioadă de latență după angina streptococică, iar răspunsurile imune la diverse antigene streptococice sînt mai puternice și prelungite la reumatici față de sănătoși. Intervin procese imune ca răspuns strict la agresiunea streptococică și nu apare o hiperreactivitate imunologică generală.

Pentru a se produce leziuni cardio-articulare, precum și în celelalte țesuturi afectate, sînt posibile numai două căi: *a*) formarea unor complexe antigen streptococic-anticorpi antistreptococici sau *b*) reacții imune între autoanticorpi antitisulari sau anticorpi încrucișați față de antigenele streptococice și față de componentele antigenice ale organelor proprii (în primul rînd miocard). Ultima ipoteză e sprijinită de următoarele date:

α) Cavelti și Cavelti (1945, 1947) au dovedit că acțiunea streptococilor asupra antigenelor tisulare le poate face autoantigenice (în experiențele lor au imunizat animalele cu un amestec de streptococi omorîți și extract cardiac, care singur nu produce anticorpi).

Pe de altă parte, Kaplan și Meysenian (1962) dovedesc prezența în grupul *A* de streptococi β-hemolitici, tipul 5, a unui antigen capabil să reacționeze încrucișat cu țesutul cardiac uman (27). Lucrarea a fost confirmată pentru numeroase alte tipuri de streptococi β-hemolitici. Ulterior s-a observat că antigene cu reactivitate încrucișată există nu numai în fibrele miocardice, ci și în mușchii voluntari, netezi, în arteriole.

β) Autoanticorpi antimiocardici există în serul bolnavilor cu febră reumatică. Ei sînt identici cu anticorpii cu reactivitate încrucișată antistreptococici (Kaplan, 1964) (citat de 16).

γ) În biopsiile de atrii cardiace, în reumatismul poliarticular acut (în cursul comisurotomiilor) sînt prezente γ-globuline fixe și componentele β_1C și β_1E ale complementului, care atestă natura imunologică a depozitelor. Histologic, în mod surprinzător, se constată absența reacțiilor celulare și numai o degenerare fibrinoidă.

Desigur, prezența autoanticorpilor serici nu explică leziunile cardio-articulare și nici existența antigenelor streptococice cu reactivitate încrucișată cu antigenele tisulare. Lipsește o corelație directă între titrul anticorpilor și severitatea leziunilor. După unii autori, anticorpii umorali ar avea chiar rol protector (Davies și colab., 1964) (citați de 16). În numeroase boli (infarctul miocardic, sindromul postcomisurotomie etc.) există anticorpi antimiocardici neînsoțiți de semnele clinice și anatomo-

Scanned with OKEN Scanner

patologice ale miocarditei reumatice. (În sindromul postcomisurotomie nu e însă exclusă persistența unor leziuni reumatice subclinice, deși ele nu explică simptomatologia.)

Intervin probabil factori genetici, insuficient cunoscuți, care explică susceptibilitatea la febra reumatică a numai 3% din persoanele supuse infecțiilor anginoase cu streptococi β-hemolitici.

Răspunsul excelent al semnelor clinice de reumatism poliarticular acut la medicația antistreptococică (antibiotice) și antiinflamatoare (salicilat, acid acetilsalicilic etc.) face necesară corticoterapia numai în cazuri mai severe. Utilizarea unor metode imunosupresive pare foarte tentantă, ținînd seama că evoluția subclinică a leziunilor cardiace e insuficient controlată de terapeutica actuală. Mijloacele imunosupresive de care dispunem sînt însă prea periculoase, prin efectele lor secundare, pentru a reprezenta un avantaj în terapia febrei reumatice; această boală va fi probabil o indicație pentru medicația imunosupresivă care urmează să apară.

BOLI AUTOIMUNE SANGUINE

Mecanismul patogenic autoimun e cert dovedit pentru o parte din anemiile hemolitice și e foarte probabil pentru anemia pernicioasă Addison-Biermer (vezi în continuare), purpura trombopenică „idiopatică" și granulocitopenia „idiopatică". Nu se cunoaște mecanismul prin care apar autoanticorpii (antigene mascate, denaturarea antigenelor, lezarea sistemului de producere a anticorpilor).

Bolile autoimune afectînd seria roșie

1. Anemiile hemolitice autoimune cu anticorpi la cald, cu anticorpi la rece, ambele putînd fi primare sau secundare.
2. Anemia hemolitică după α-metildopa.
3. Hemoglobinuria paroxistică la rece Donath-Landsteiner.
4. Anemii hemolitice induse de medicamente; nu sînt de fapt autoimune, ci provocate de reacții imune de un alt tip.
5. Anemia pernicioasă Addison-Biermer iese din cadrul subiectului deoarece necesită o terapie substitutivă, nu imunosupresivă — cel puțin actualmente.

Experimental este cunoscută anemia hemolitică autoimună spontană la tulpina de șoarece *NZB/BL*, dovadă a rolului jucat de factorul genetic în bolile autoimune.

1. *Anemiile hemolitice autoimune cu anticorpi la cald*

Aceste anemii afectează ambele sexe, toate vîrstele, cu severitate variabilă, tranzitoriu (săptămîni sau luni) sau de durată, cu remisiuni spontane posibile, dar mortalitate considerabilă, pînă la 40% în seriile lui Dácie (vezi 10). Pot apărea și secundar unor sindroame maligne (leucemie limfatică cronică, reticulosarcom sau lupus eritematos). Prezența autoanticorpilor serici și fixați pe eritrocite și corelarea lor directă cu

Scanned with OKEN Scanner

simptomatologia clinică dau certitudinea mecanismului patogenic autoimun.

Autoanticorpii sînt în majoritate incompleţi, ataşaţi de eritrocite şi evidenţiaţi de testul antiglobulinic direct (Coombs) sau liberi în ser (40—68% din cazuri) cu test Coombs indirect pozitiv. Rar se întîlnesc autoanticorpi compleţi serici, de tip imunoglobuline *G*. Aceştia sînt totdeauna asociaţi cu hemoliză severă, însoţită adesea de hemoglobinurie.

Autoanticorpii incompleţi sînt de tip imunoglobuline *G*, de tip imunoglobuline *G* fixatori de complement sau imunoglobuline *M*, primii aglutinanţi, ceilalţi aglutinanţi şi hemolizanţi, cu specificitate de acţiune anti-Rhesus (30% anti-*e*) sau nespecifici (în cazul autoanticorpilor de tip imunoglobuline *M* sau imunoglobuline *G* care acţionează fixînd complementul).

Complementul seric este adesea redus în anemia hemolitică autoimună, fie prin utilizare, cînd există hemolizine complete la cald, cu sindrom hemolitic sever, fie în cazul anemiilor hemolitice autoimune secundare din lupusul eritematos diseminat.

2. *Anemia hemolitică după α-metildopa (aldomet)*

Tipul acesta are toate caracteristicile imunologice ale anemiei hemolitice cu anticorpi la cald şi, deşi pare să depindă de momentul administrării medicamentului (după un interval liber de 6—12 luni) şi de doză, dispărînd la întreruperea tratamentului, totuşi nu există anticorpi antidrog, ci se dezvoltă numai autoanticorpi de tip imunoglobuline *G*, incompleţi, prezenţi în ser sau ataşaţi de eritrocite, cu specificitate de acţiune anti-Rh şi mai frecvent anti-*e*. Numai la 0,02% din bolnavii la care apar autoanticorpi după α-metildopa survine o anemie hemolitică perfect asemănătoare clinic şi serologic anemiei autoimune hemolitice cu anticorpi la cald. Diagnosticul se bazează pe anamneză şi pe dispariţia sindromului clinic (imediat) şi serologic (în 7—8 luni) la întreruperea tratamentului.

Anemia autoimună hemolitică de tip anticorpi la cald e controlată prin medicaţia imunosupresivă, în primul rînd prin corticoterapie. Splenectomia e adesea favorabilă. La bolnavii la care e necesară corticoterapia de lungă durată, în doze mari, în cazurile care recidivează după splenectomie şi în sindroamele severe corticorezistente şi necontrolate de splenectomie, se administrează imunosupresoare antineoplazice: azatioprină (cel mai util), 6-mercaptopurină, 6-tioguanină, azot-iperită, actinomicină *C*. Ca adjuvant s-a asociat iradierea timusului (49) sau timectomia (63; 28). Rezultatele par favorabile clinic şi în ceea ce priveşte scăderea producţiei de anticorpi.

Anemia hemolitică post α-metildopa necesită oprirea tratamentului. În cazul unui sindrom hemolitic sever se recurge la corticoterapie, care remite simptomatologia chiar dacă administrarea drogului continuă, însă în ultimul caz oprirea prednisonului e însoţită de o recidivă.

3. *Anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la rece*

Diferă net de anemia hemolitică autoimună cu anticorpi la cald. Forma primară apare la persoane în vîrstă, de ambele sexe, durează

Scanned with OKEN Scanner

mult și nu e prea gravă. Pe lîngă anemie și icter apar frecvent hemoglobinurie și fenomene Raynaud.

Forma secundară survine în reticulosarcoame, limfoame, pneumonie atipică prin *Mycoplasma pneumoniae* și excepțional în febra ganglionară. Debutează brusc și durează puțin.

Autoanticorpii se găsesc în 100% din cazuri (test antiglobulinic direct pozitiv, de fapt datorită complementului fixat de eritrocite). Sînt anticorpi completi de tip imunoglobuline *M*, provoacă o hemoliză ușoară și cresc de obicei aglutinarea la 30—32°C *in vitro* și pH acid. Acțiunea anticorpilor aglutinanți la rece se exercită independent de grupele sanguine cunoscute, majoritatea eritrocitelor adulte fiind afectate și denumite convențional *I*. Deci, autoanticorpii au acțiune anti-*I*, cu excepția celor din febra ganglionară, care acționează anti-*i* (eritrocite relativ inaglutinabile în alte condiții).

Concentrația complementului seric este scăzută mai ales la bolnavii cu titruri înalte de anticorpi la rece și hemoliză intravasculară marcată.

Corticoterapia și splenectomia sînt relativ ineficace în acest tip de anemie, dar tratamentul cu clorambucil în doze mici (2 mg/zi) e util în caz de sindrom sever (10). Substanțele antimitotice reprezintă primul mijloc terapeutic în anemiile hemolitice cu anticorpi la rece, în schimb reprezintă o soluție de rezervă, de ordinul al treilea (după corticoterapie și splenectomie) în anemia hemolitică cu autoanticorpi la cald.

4. *Hemoglobinuria paroxistică la rece*

Boală hemolitică cronică, clasic asociată sifilisului congenital, actualmente decelată și în afara acestei afecțiuni (tipul cronic „idiopatic" și acut „idiopatic"), caracterizată prin prezența autoanticorpilor de tip Donath-Landsteiner, iar clinic prin crize de hemoglobinurie paroxistică la rece, de durată și severitate variabile.

Autoanticorpii Donath-Landsteiner lizează eritrocitele umane normale chiar dacă sînt foarte puțin concentrați și adesea acționează bifazic (sînt adsorbiți de eritrocite la temperaturi joase și le lizează la o temperatură moderată, de 18—20°C: testul Donath-Landsteiner). Au de asemenea proprietăți aglutinante. Sînt anticorpi de tip imunoglobuline *G* (nu imunoglobuline *M*, ca anticorpii la rece), cu specificitate de acțiune împotriva grupei sanguine *P*, care acționează la un pH sanguin optim de 7,5—8,5. Nu dau testul antiglobulinic direct decît în cursul crizei, prin decelarea complementului de pe eritrocite.

Tratamentul constă, în primul rînd, în profilaxia expunerii la frig.

5. *Anemiile hemolitice induse de medicamente*

În cursul tratamentului cu diverse medicamente — stibofen (fuadin ®), chinidină, chinină, fenacetină, PAS, antistin, salicil-azosulfapiridin, penicilină, insecticide — poate apărea o anemie hemolitică, însoțită de un test antiglobulinic direct pozitiv la majoritatea bolnavilor și de anticorpi serici care reacționează cu eritrocitele normale în prezența medicamentelor administrate.

Scanned with OKEN Scanner

Modul de acțiune al drogurilor în declanșarea procesului antiimun a fost prezentat în *Partea întîi, capitolul 3.*

Boli autoimune afectînd trombocitele

Purpura trombocitopenică indusă de medicamente, ca și anemia hemolitică de acest tip, este produsă printr-un mecanism de tip haptenic (vezi *Partea întîi, capitolul 3).*

Purpura trombocitopenică idiopatică este foarte probabil o boală autoimună.

a) Experimental a putut fi produsă o purpură trombocitopenică asociată cu purpură vasculară, la cobai, cu ajutorul serului antitrombocitar (Bedson, citat de 10).

b) Trombocitopenia idiopatică este frecvent asociată anemiei hemolitice autoimune (sindromul Evans, 1951).

c) Bolnavii cu purpură trombopenică idiopatică posedă un mecanism foarte activ de distrugere a trombocitelor, viața plachetelor normale marcate transfuzate la acești bolnavi fiind scurtată mult, sub 10 zile. Între durata de viață a trombocitelor și nivelul trombocitopeniei există o corelație mai strînsă decît în cazul anemiei hemolitice autoimune (Najean și colab., 1963). Factorul trombocitopenic se află în plasmă, deoarece transfuzii cu plasmă de la pacienți cu purpură trombopenică idiopatică la receptori normali sînt urmate de trombocitopenie în 60% din cazuri (Harrington și colab., 1951) (citat de 10). Acest factor antitrombocitar este o γ-globulină 7S (Shulman și colab., 1964), adsorbită de trombocitele umane normale, cu specificitate de specie.

Toate aceste date dovedesc că intervine un factor antitrombocitar de natură anticorpică, dar metodele convenționale de imunologie nu l-au putut pune în evidență (testele antiglobulinice direct și indirect, testele de consum antiglobulinic directe și indirecte, testul direct antiglobulinic cu fluoresceină, testul aglutininelor, de fixare a complementului, de lizare a trombocitelor, de inhibare a retracției cheagului, de inhibare a captării serotoninei marcate cu C^{14}).

În marea majoritate a cazurilor, purpura trombopenică idiopatică răspunde foarte bine la corticoterapie. Dacă nevoia de steroizi persistă după 6 luni de tratament e indicată splenectomia (10).

În caz de corticorezistență, corticodependență, recidivă după splenectomie sînt indicate alte mijloace imunosupresive, de tipul antineoplazicelor (azatioprina, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, actinomicina C), eventual asociate cu iradierea timusului (Richmond și colab., 1963).

Boli autoimune afectînd leucocitele

1. *Granulopenia idiopatică*

În granulopenia idiopatică, autoanticorpii antileucocitari au fost demonstrați cu dificultate, din cauza interferenței izoanticorpilor.

Tehnica consumului antiglobulinic direct și indirect a decelat anticorpi incompleți antileucocitari la 40% din bolnavii cu granulopenie idio-

Scanned with OKEN Scanner

patică. Acești anticorpi sînt γ-globuline care reacționează mai degrabă cu citoplasma leucocitară decît cu nucleii, și anume cu fracțiunea ribozomică citoplasmatică (Dausset și colab.) (10).

Nu există diferențe clinice între bolnavii cu teste pozitive pentru anticorpi și cei cu teste negative.

2. *Leucopenia și agranulocitoza datorite medicamentelor*

Boala apare prin aglutinarea leucocitelor (granulocitelor) în cursul tratamentului cu diverse droguri ca amidopirin, sulfapiridin, aur, metiltiouracil, salicil-azasulfapiridin etc.

Nu se știe dacă intervine un autoanticorp propriu-zis sau mai degrabă un anticorp antihaptenă.

GLOMERULONEFRITELE ȘI GLOMERULONEFROZELE

Deși substratul imunologic al multor forme de glomerulonefrite e unanim recunoscut, și date experimentale arată multiple posibilități de a provoca leziuni glomerulonefritice pe baza reacțiilor imunologice, în sindroamele renale umane nu au fost încă precizate antigenele specifice, autologe sau heterologe, nici anticorpii specifici, autoimuni sau heteroimuni (21). De aceea, etio-patogenia variatelor tipuri de nefrită mai e controversată.

1. Majoritatea formelor de glomerulonefrite prezintă imunoglobuline, complement (tehnica: imunofluorescență) sau componente ale sistemului de coagulare, depozitate pe membrana bazală glomerulară (în glomerulonefrita proliferativă acută și cronică, în focar, glomerulonefrita membranoasă).

Modificări sistemice atestă prezența unor reacții imune în glomerulonefrita proliferativă acută și cronică: nivel scăzut al complementului seric, hipergammaglobulinemie, iar în formele acute, titruri foarte crescute de antistreptolizine O.

În glomerulonefrita membranoasă, depozitele de imunoglobuline G pe membrana bazală sînt foarte evidente, în schimb nu există semnele serice ale reacțiilor imunologice. În nefroza lipoidică lipsesc depozitele de imunoglobuline glomerulare (21).

În glomerulonefrozele secundare din lupusul eritematos diseminat, mecanismul patogenic autoimun a fost demonstrat destul de clar (vezi lupusul eritematos diseminat).

În sindromul Goodpasture apar leziuni renale cu îngroșare a membranei bazale, depuneri vizibile la microscopul electronic sub forma unui material electronodens subendotelial; tehnicile cu imunofluorescență decelează imunoglobuline de tip imunoglobuline G și complement. Depuneri similare se observă în glomerulonefroza diabetică (sindromul Kimmelstiel-Wilson).

2. Glomerulonefritele sînt adesea asociate cu alte boli autoimune: cu lupusul eritematos, cu hepatita „lupoidă", cu hepatita cronică și cu crioglobulinemia (12).

Scanned with OKEN Scanner

3. În urina și serul omului normal s-au găsit antigene care reacționează încrucișat cu antigenele membranei bazale glomerulare, deci sursă de imunogeni potențiali pentru dezvoltarea glomerulonefritelor (43).

4. Există asemănări între bolile glomerulare umane și glomerulonefritele imune produse experimental, care permit unele concluzii patogenice.

Glomerulonefrita difuză acută streptococică este analogă glomerulonefritei prin complexe solubile antigen-anticorp produsă la animale (21). Nu este neapărat necesar un proces autoimun pentru a explica sindromul.

Glomerulonefrita proliferativă progresivă la om e similară nefritei autoimune produse la oaie injectînd rinichi heterolog în adjuvant Freund; apar autoanticorpi împotriva membranei bazale glomerulare și tubulare, precum și leziuni histologice de glomerulonefrită proliferativă.

Glomerulonefrita membranoasă este similară histologic nefritei autoimune produse la șobolani injectînd intraperitoneal rinichi de șobolan în adjuvant Freund, cu depozite de imunoglobuline G în membrana bazală îngroșată masiv, datorită depunerii unor complexe solubile autoanticorp-antigen tubular.

În sindromul Goodpasture (hemoptizie cu insuficiență renală acută) există leziuni similare cu acelea din nefrita serică nefrotoxică. Experimental, țesutul pulmonar e o sursă eficientă de antiser nefrotoxic puternic. Se poate ca leziunile pulmonare primare să producă autoanticorpi puternici, cu reactivitate încrucișată cu țesutul renal al bolnavului. La unii din acești bolnavi au fost puși în evidență anticorpi antiglomerulari. Același tip de autoanticorpi cu reactivitate încrucișată e responsabil și de leziunile proliferative renale din hepatita lupoidă asociată (21).

Mecanismul leziunilor în sindromul Goodpasture pare să fie o reacție imună citotoxică (de tipul II).

În sindromul nefrotic cu leziuni glomerulare minime, la copii și la cei 10—20% adulți cu sindrom nefrotic de acest tip, substratul imunologic e neclar. Experimental, acest sindrom este similar nefrozei produse injectînd intravenos la câini aminonucleozidele din puromicină; sindromul experimental se datorește efectului citotoxic al drogului. În schimb, la om nu se găsesc depozite de imunoglobuline și nici semnele sistemice ale unui proces imun. Singura bază pentru a susține mecanisme patogenice imune rămîne răspunsul excelent (clinic și histologic) la imunosupresie cu corticoizi sau antineoplazice (azatioprină, ciclofosfamidă).

5. În glomerulonefritele cronice au fost utilizate diverse mijloace imunosupresive: *a)* corticoterapia, *b)* antineoplazicele, *c)* drenarea canalului limfatic, efectuat în insuficiența renală cronică cu retenție azotată, *d)* serul antilimfocitar.

Proba terapeutică cu medicamente imunosupresive nu a fost efectuată în glomerulonefrita difuză acută și în focar, care răspund la tratamentul tradițional. În glomerulonefritele cronice cu sindrom nefrotic și în diverse glomerulonefroze, corticoterapia ameliorează evident starea clinică la majoritatea bolnavilor. În cazul corticodependenței sau corticorezistenței, mai ales la copii (Scheiffarth și colab., 1969) la care steroidoterapia interferează cu procesul de creștere, au fost utilizate cu succes

Scanned with OKEN Scanner

imunosupresoare antineoplazice: azatioprina, ciclofosfamida, 6-mercaptopurina, azot-iperita, clorambucilul. Ciclofosfamida întîrzie și dezvoltarea leziunilor renale experimentale: la șoarecii *NZB/BL* cu nefrită spontană de tipul celei lupice (vezi 59).

Au fost citate insuccese în tratamentul mixt cu prednison și azatioprină al sindromului Goodpasture (24) și al unor glomerulonefrite cronice terminale (48), care au răspuns bine la tratamentul cu globuline antilimfocitare (48).

În sindromul nefrotic la copii, rezultatele terapiei imunosupresive cu corticoizi au fost comparate recent cu tratamentul de durată cu azatioprină. Studiul lui Abramowicz și colab. (1970) este unul din primele în care au fost cercetate și loturile martore (111 martori cu sindrom nefrotic sub tratament cu prednison față de 86 de cazuri tratate cu azatioprină, dintre acestea 49 prezentînd recăderi frecvente după corticoterapie, iar 37 corticorezistență). Rezultatele exprimă rezerve față de optimismul inițial și arată că nu există avantaje ale administrării azatioprinei față de *placebo* la copiii corticorezistenți aflați sub corticoterapie (alți autori citau ameliorări în 50% din cazuri) (59; 32), iar avantajul în cazurile cu recidive e nesemnificativ. Remarcăm că rezultatele superioare menționate de alți autori au fost obținute fără o evaluare comparativă, pe cazuri puține, pe termen scurt. Pe de altă parte, însă, lotul martor ales de Abramowicz și colab., deși este declarat corticorezistent, a primit tot timpul prednison. Alți autori, repetînd experimentul clinic, însă folosind ciclofosfamida, arată că aceasta reduce semnificativ incidența recăderilor față de un grup martor la care s-a întrerupt tratamentul cu prednison (Barrat și colab., 1970, citat de Siegel, 1971). Studiul corelativ al rezultatelor, efectuat de Siegel și colab. (1971), arată că în ambele cazuri tratamentul cu antineoplazice are efect identic și favorabil față de administrarea unui *placebo*, însă nu prezintă avantaje față de administrarea prednisonului intermitent (54).

Pe de altă parte, tipul histologic al glomerulonefritei are un rol foarte important în răspunsul la antimitotice. În sindromul nefrotic cu leziuni glomerulare minime, corticoterapia este eficace în 60% din cazuri, iar clorambucilul și azatioprina remit complet numeroase cazuri (cînd corticoizii sînt contraindicați). Celelalte glomerulopatii răspund mai modest la antimitotice. Glomerulopatiile membranoase, de obicei corticorezistente, se remit complet sub antimitotice în 30% din cazuri și incomplet în alte 30%. Glomerulonefritele proliferative răspund mediocru la chimioterapia imunosupresivă (15% remisiuni complete); aceasta dă rezultate mai bune în formele recente cu evoluție sub 2 ani (32). Clinic, hematuria, azotemia, hipertensiunea indică pacienții care răspund mai puțin la imunosupresoare. Pe de altă parte, studii experimentale (vezi 21) și primele aplicații clinice (49) arată avantajele serului și globulinei antilimfocitare în tratamentul glomerulopatiilor care nu răspund la alte metode de tratament.

Evaluarea rezultatelor serului antilimfocitar necesită o experiență clinică mult mai bogată.

Scanned with OKEN Scanner

1. *Gastrita cronică atrofică*

Evoluînd pînă la atrofia mucoasei gastrice, asociată sau nu cu anemie megaloblastică Addison-Biermer, este o boală cu mecanisme autoimune aproape cert dovedite, asupra cărora nu insistăm, deoarece mijloacele imunosupresive actuale sînt inferioare terapiei substitutive tradiționale.

Autoanticorpii gastrici sînt de două tipuri: împotriva celulelor parietale *(antimicrozomali)* și împotriva factorului intrinsec. Primii se întîlnesc la 80—90% din bolnavii cu anemie megaloblastică biermeriană, dar și în 20% din anemiile feriprive și la indivizi aparent sănătoși. Anticorpii împotriva factorului intrinsec Castle sînt mai specifici: există practic numai în anemia Biermer (57% din cazuri) și rar în alte boli autoimune (boala Basedow, mixedem primar).

În unele boli autoimune (mixedemul primar, tiroidita Hashimoto, boala Basedow) se găsesc de asemenea autoanticorpi anticelule parietale gastrice.

Există o corelație directă între gravitatea leziunilor gastrice și frecvența autoanticorpilor, ceea ce pledează de asemenea pentru rolul lor în patogenia gastritei atrofice și a atrofiei gastrice (9).

2. *Colita ulceroasă*

Dintre teoriile patogenice asupra colitei ulceroase, pentru aceea imunologică pledează cele mai multe argumente.

Experimental nu s-a putut provoca un sindrom cronic similar la animale, însă colonul poate fi incriminat în răspunsuri imunologice, cum sînt reacțiile Shwartzman și Auer.

Anatomopatologic, leziunile de colită ulceroasă sînt compatibile cu existența unor mecanisme imune prin exacerbarea infiltrației mucoase cu limfocite, plasmocite și eozinofile, alături de ulcerații. Eozinofilele antagonizează histamina, eliberată adesea la locul reacției antigen-anticorp. De altfel, mastocitele se înmulțesc în colita ulceroasă.

Imunoglobulinele există în mod normal în plasmocitele din colon (imunoglobulinele *A*, *M* și *G*, mai recent descrisă imunoglobulină *D*, cu predominanța tipului de imunoglobulină *A*). În biopsiile rectale de la cazuri de colită ulceroasă, numeroase plasmocite conțin imunoglobulina *D* (Crabe și colab., 1966) (citat de 56).

În ser, modificările electroforezei proteice sînt nespecifice, probabil datorită pierderilor proteice la nivelul mucoasei intestinale, care maschează hiperproducția proteică sistemică.

Testele de hemaglutinare arată titruri crescute serice de anticorpi împotriva antigenelor proteice din alimente, mai ales din lapte. Valori ridicate ale ultimelor corespund evoluției nefavorabile a bolii, deși nivelul anticorpilor circulanți nu poate preciza la un anumit pacient dacă acesta va suporta bine o dietă lactată (56).

Scanned with OKEN Scanner

Autoanticorpii anticolon, măsurați cu teste de hemaglutinare și imunofluorescență, apar la majoritatea copiilor cu colită ulceroasă și la 13—16% dintre adulții bolnavi. Antigenul colonic este un lipopolizaharid. Perlmann și colab. (1965) au arătat că există o strînsă asemănare între acest antigen colonic și extractele lipopolizaharidice din *Escherichia coli* O_{14}. Această importantă descoperire explică printr-o reacție încrucișată apariția autoanticorpilor anticolon. Antigenul colonic a fost găsit în citoplasma celulelor epiteliale din colon, în mucusul colonic, în ganglionii limfatici regionali, în canalele biliare și unele celule ale intestinului subțire, dar nu în ficat, splină, rinichi, uvee și alte țesuturi. Autoanticorpii sînt adevărați, verificați prin reacțiile intens pozitive cu extracte de colon ale bolnavilor de colită; reacții pozitive mai slabe dă și țesutul colonic normal. În schimb, serul oamenilor sănătoși conține rar autoanticorpi colonici.

Nu există o corelație între starea clinică (severitatea, durata și extinderea leziunilor colonului, apariția complicațiilor extracolonice) și nivelul autoanticorpilor. Autoanticorpii persistă după colectomia totală. Ei se găsesc și în alte boli, cum sînt ileita terminală și dizenteria amibiană.

Aceasta ar arăta că mecanismele autoimune umorale nu provoacă leziunile din colita ulceroasă, ci sînt numai indicatori ai unei reactivități modificate. Boala apare probabil datorită unor reacții autoimune mediate de limfocitele sensibilizate.

Asocierea colitei ulceroase cu alte boli autoimune constituie încă un argument în favoarea mecanismelor patogenice implicate. Asocierile implică lupusul eritematos, hepatita lupoidă, tiroidita Hashimoto, miastenia gravă, anemia pernicioasă. Uneori apar în colita ulceroasă autoanticorpi frecvent întîlniți în alte boli autoimune: factori antinucleari, anticorpi anticelule parietale gastrice (vezi 62).

Complicațiile colitei ulceroase, ca și ale ileitei terminale (56), au drept particularitate varietatea lor, aparent independentă de tulburările digestive datorite colitei ulceroase. De exemplu, apar: artrite, spondilită ankilopoetică, eritem nodos, erupții cutanate, ulcerații aftoase ale gurii, leziuni oculare. Astfel, colita ulceroasă pare să fie un sindrom generalizat, cu predominanță colonic. Totuși, nu au putut fi aduse argumente imunologice în sprijinul acestui punct de vedere, prin decelarea unor antigene comune acelora colonice în diverse alte țesuturi.

În concluzie, există numeroase argumente pentru a considera colita ulceroasă drept o boală imună organospecifică, cu punct de plecare eventual într-o reacție imună încrucișată cu antigenele enterobacteriaceelor și întreținere prin mecanisme imunologice mediate predominant celular.

Proba tratamentului confirmă acest punct de vedere. Alături de dezinfecția locală (cu sulfamide neresorbabile: sulfasalazine), corticoterapia are o indicație directă și dă rezultate favorabile. În cazuri corticorezistente, corticodependente sau în complicații au fost utilizate cu rezultate variabile antineoplazicele, în primul rînd azatioprina și 6-mercaptopurina, în doze leucopenizante (vezi autorii din tabelul XIX). În colita ul-

Scanned with OKEN Scanner

ceroasă, complicaţiile antineoplazicelor sînt deosebit de grave, ţinînd seama de sensibilitatea epiteliului intestinal la antimitotice. De aceea, antineoplazicele vor fi prescrise după o atentă apreciere a alternativelor, cu atît mai mult cu cît eficacitatea lor nu a fost probată prin studii cu loturi martor, iar remisiunile spontane sînt frecvente în colita ulceroasă. Nu există recomandări precise de a folosi terapia imunosupresivă în această boală (cu excepţia corticoterapiei), cel puţin pînă vor apărea medicamente corespunzătoare, lipsite de efecte secundare (59).

3. *Sindromul Crohn* (enterita regională)

Etio-patogenia enteritei regionale (adesea ileită terminală) e neclară, deşi ipotezele patogenice sînt identice cu acelea din colita ulceroasă. Argumentele asupra unui mecanism patogenic imun sau autoimun sînt foarte slabe.

Anatomopatologic se constată leziuni inflamatoare cronice, infiltraţii cu limfo-plasmocite şi eozinofile, formîndu-se granuloame submucoase cu celule gigante, fără cazeificare. Ulterior survin ulceraţii şi fistule. Leziunile granulomatoase seamănă cu acelea din sarcoidoză, tuberculoză, infecţii fungice, schistosomiază. Unii autori pun problema definirii sindromului Crohn ca o variantă intestinală a sarcoidozei Boeck-Schauman. În orice caz, testul Kveim este negativ, afectarea tractului intestinal în sarcoidoză e rară şi, în plus, patogenia acestei afecţiuni e de asemenea obscură.

Nu au putut fi identificaţi autoanticorpi împotriva mucoasei intestinale şi nici anticorpi împotriva antigenelor proteice, alimentare, sau altetipuri de autoanticorpi: antitiroidieni, factori nucleari, anticelule parietale gastrice etc.

Corticoterapia are o eficienţă redusă în formele recurente.

În concluzie, nu există argumente asupra naturii autoimune a sindromului Crohn.

Cu toate acestea, s-au făcut încercări terapeutice cu mijloace imunosupresive antineoplazice, ca şi în cazul sarcoidozei (30), mai mult de probă decît bazate pe o indicaţie teoretică imunologică. Winkelman şi colab. (64) citează nouă ameliorări după azot-iperită, iar Brooke şi colab. (6), pe şase cazuri refractare la alte mijloace terapeutice, inclusiv chirurgicale, raportează succese evidente după un tratament cu azatioprină (4 mg/kilocorp timp de 10 zile, apoi 2 mg/kilocorp timp de 5 săptămîni pînă la 6 luni).

Sînt necesare, desigur, o experienţă clinică mult mai bogată şi o bază teoretică fundamentată pentru a aprecia valoarea acestor rezultate.

4. *Hepatite cronice active*

(hepatita lupoidă, hepatita cu plasmocite, hepatita cronică Waldenström, ciroza juvenilă)

O componentă autoimună este implicată în patogenia tuturor hepatitelor cronice (14) şi chiar în hepatita acută (interpretînd imunologic

Scanned with OKEN Scanner

existența antigenului Australia), însă încadrarea între bolile autoimune și indicații de terapie imunosupresivă severă nu se pot face în mod cert decît pentru hepatita cronică activă („lupoidă"). Chiar și în acest caz nu au putut fi demonstrați categoric autoanticorpi specifici antificat, nici existența unor leziuni autoimune de tipul IV, și nici nu a putut fi produsă experimental o boală autoimună similară.

Există însă numeroase argumente care pledează pentru natura autoimună a hepatitei „lupoide":

1. Histologia (biopsii hepatice) arată infiltrații, îndeosebi în spațiile porte, cu limfocite și plasmocite. Neutrofilele și eozinofilele sînt relativ sărace (de aici numele de „hepatită cu plasmocite").

Sexul predominant afectat este cel feminin. Evoluția e progresivă, cu alternanțe, iar mortalitatea mare, de circa 50%.

2. Seric domină hipergammaglobulinemia. Imunoglobulinele *G* ating cam 5 g% în 25% din hepatitele cronice active, în 1% din cirozele criptogenetice și lipsesc în alte boli hepatice; chiar valori ale imunoglobulinelor *G* în jurul a 4 g% predomină net în hepatita cronică activă, față de alte sindroame hepatice. Hipergammaglobulinemia extremă și ridicarea marcată a transaminazelor la un hepatic impun suspectarea unei hepatite cronice active (59).

3. Hepatita cronică activă e asociată frecvent cu alte boli autoimune, și anume cu colita ulceroasă, anemia hemolitică autoimună, trombocitopenia și leucopenia autoimună, glomerulonefrita membranoasă, tiroidita Hashimoto. Mai mult, în serul bolnavilor suferind numai de hepatită cronică activă pot apărea autoanticorpi antitiroidieni, anticorpi antinucleari (fenomenul LE, de unde numele de hepatită lupoidă), factorul reumatoid.

4. În ser apar diverși autoanticorpi, dar nu anticorpi specifici antihepatici.

Anticorpii antinucleari de tipul antidezoxiribonucleoproteinelor (testul celulelor LE, dar mai ales metoda de imunofluorescență) există în 20—60% din cazuri (după diverse statistici), iar anticorpi antihistone nucleare, în 16%.

Reacția autoimună fixatoare a complementului în prezența extractelor de ficat uman este prezentă în 30% din cazurile de hepatită cronică activă, ca și în lupusul eritematos diseminat, ciroza biliară primitivă, macroglobulinemia, poliartrita reumatoidă, dermatomiozită și sindromul Sjögren. Nu este sigur că această reacție ar identifica autoanticorpi specifici antihepatici (34; 3). Valoarea diagnostică a testului pozitiv e limitată de larga sa incidență în alte boli hepatice și extrahepatice.

Anticorpii antimitocondriali, fără specificitate hepatică, evidențiați prin imunofluorescență indirectă, sînt responsabili de reacția autoimună fixatoare a complementului.

Anticorpi reacționînd cu fibrele musculare netede sînt prezenți în 60% din cazurile de hepatită cronică activă, dar și în 50% din cirozele biliare primare și 28% din cirozele criptogenetice, însă nu apar în hepatita infecțioasă, ciroza alcoolică, obstrucțiile biliare extrahepatice. Natura acestor anticorpi e de tip imunoglobuline *G* și pot fi decelați și în alte boli autoimune (poliartrita reumatoidă).

Scanned with OKEN Scanner

Anticorpii anticanalicule biliare, cu frecvență destul de joasă, par a fi singurii anticorpi antihepatici din hepatita cronică activă (3) și se datoresc probabil proliferării și distrugerii canaliculelor biliare.

Mecanismul autoimun al hepatitei cronice active, presupunînd că există, e mediat de celulele imunocompetente sensibilizate.

5. Răspunsul favorabil al unor cazuri la terapia imunosupresivă reprezintă un argument pentru prescrierea acestor mijloace. Dozele utilizate la om nu sînt imunosupresoare (41) în ceea ce privește producția anticorpilor umorali și reacțiile de hipersensibilitate întîrziată.

a) Corticoterapia ameliorează starea clinică, scade nivelul bilirubinei serice, al transaminazelor, imunoglobulinelor *G* și titrul autoanticorpilor. Eficiența terapiei de durată cu steroizi e însă incertă. McKay și Burnett (34) consideră că prelungesc viața, concluzie infirmată de alți autori, care rezervă corticoterapia cazurilor grave, pentru o ameliorare subiectivă.

b) Imunosupresoarele antineoplazice (6-mercaptopurina, azatioprina, 6-tioguanina, metilhidrazida) atenuează de asemenea simptomatologia clinică. Există o toleranță hematologică mai bună a 6-mercaptopurinei și azatioprinei, care au însă potențial toxic hepatic. La dozele administrate, producția de anticorpi și hipersensibilitatea întîrziată nu sînt diminuate la om (41) , ceea ce explică recidivele prompte la întreruperea tratamentului. Page și colab. (41) susțin că 6-mercaptopurina împiedică replicarea virală, ceea ce i-ar explica efectul favorabil.

Prognosticul general și supraviețuirea nu sînt ameliorate (35).

c) Splenectomia e larg indicată de unii autori (14) în toate hepatitele cronice active, dar și în hepatitele cronice splenomegalice cu hipersplenism (autorii citați vorbesc de un hipersplenism „imunologic"). Se efectuează o pregătire pre- și postoperatoare cu cortizonice.

În concluzie, natura autoimună a hepatitei cronice active e foarte probabilă, deși mecanismul imun mediat celular responsabil nu a putut fi pus în evidență. Terapia imunosupresivă e paliativă și se prescrie bolnavilor cu simptomatologie clinică severă.

5. *Ciroza biliară primară*

Ciroza biliară primară este a doua afecțiune hepatică cu mecanism patogenic probabil autoimun.

1. Histologic sînt prezente infiltrații bogate limfo-plasmocitare ale ariilor portale, mai evidente în relație cu canaliculele biliare interlobulare, sugerînd că distrugerea acestora este de natură imună.

2. În contrast cu hepatita cronică activă, nivelul imunoglobulinelor *G* seric e normal sau ușor crescut, iar hipergammaglobulinemia e corelată probabil cu nivelul ridicat de lipoproteine.

3. Autoanticorpi neorganospecifici au fost clar puși în evidență.

Se remarcă înaltul titru al reacției autoimune fixatoare a complementului, prezentă în 100% din cirozele biliare primare. Autoanticorpii

Scanned with OKEN Scanner

împotriva antigenelor *mitocondriale* (nespecifici ficatului), evidențiați prin imunofluorescență, sînt — după unii autori — responsabili de reacția autoimună fixatoare a complementului. Testul imunofluorescenței este mai specific decît reacția autoimună fixatoare a complementului.

Aceste teste au importanță diagnostică, permițînd diferențierea colostazei induse prin distrugerea canaliculelor biliare intrahepatice de cea cosecutivă obstrucției canalelor biliare extrahepatice sau determinată de medicamente. Dacă rezultatul e incert se impune laparotomia exploratoare. Diagnosticul diferențial cu hepatita cronică activă este mai dificil, deoarece în 30% din cazurile de hepatite cronice active există autoanticorpi antimitocondriali.

Anticorpi antinucleari, anticorpi împotriva fibrelor musculare netede, anticorpi împotriva antigenelor coloidale tiroidiene (CA_2 și tireoglobulină) se găsesc la circa 28% din bolnavii cu ciroză biliară primară.

Nu există încă date asupra existenței unor autoanticorpi antihepatici specifici, cu excepția unor titruri joase de anticorpi anticanaliculari.

În concluzie, nu există dovezi certe asupra mecanismelor autoimune din ciroza biliară primară. Anticorpii antimitocondriali, prezenți în aproape toate cazurile, nu sînt citotoxici pentru epiteliul canaliculelor biliare. Intervenția unor reacții imunologice mediate celular nu e dovedită decît prin infiltrația limfocitară din spațiile portale, iar boli autoimune similare cirozei biliare primare nu au putut fi produse experimental.

SARCOIDOZA

Etio-patogenia sarcoidozei este neclară. Există răspunsuri imunologice alterate în această boală, de exemplu: o producție crescută de anticorpi circulanți și o scădere a hipersensibilității întîrziate. Sensibilitatea întîrziată nu se dezvoltă nici după remisiunea sarcoidozei sau vaccinarea cu BCG, ci numai prin transfer pasiv de leucocite de la indivizi tuberculinopozitivi.

Există deci o deficiență a sistemului reticulo-histiocitar în dezvoltarea sensibilității întîrziate. Testul Kveim pozitiv în sarcoidoză nu e suficient prin el însuși pentru a preciza dacă boala se datorește unor factori imunologici (42).

Cu toate acestea, răspunsul favorabil la corticoterapie și existența leziunilor granulomatoase cu infiltrații limfocitare i-au determinat pe unii autori să utilizeze în tratamentul sarcoidozei și imunosupresia cu azatioprină, în doze medii (100—150 mg/zi).

Au fost relatate două cazuri cu formă severă de sarcoidoză pulmonară și contraindicații pentru corticoterapie (corticorezistență și infecție pulmonară severă în primul caz, psihoză steroidică în al doilea). Ele au reacționat favorabil, dispneea atenuîndu-se evident în cîteva zile, iar imaginea radiologică pulmonară în 15—30 de zile (30).

Scanned with OKEN Scanner

Evident, indicația imunosupresoarelor antineoplazice în sarcoidoză necesită acumularea unei experiențe clinice mai bogate și trebuie limitată deocamdată la cazurile severe care nu răspund la corticoterapie.

SINDROMUL SJÖGREN

Sindromul Sjögren se caracterizează printr-o inflamație cronică, datorită căreia scade secreția glandelor lacrimale și salivare, și avînd ca rezultat o kerato-conjunctivită uscată și xerostomie.

Asocierea cu poliartrita cronică evolutivă, lupusul eritematos diseminat, sclerodermia, dermatomiozita și periartrita nodoasă este frecventă.

Autoanticorpii serici sînt de o mare varietate, egală cu cea din lupusul eritematos diseminat.

În 90% din cazuri există factorul reumatoid.

În 75% din cazuri se decelează factori antinucleari de tip antidezoxiribonucleo-histone, dar și antiacid ribonucleic nucleolar. La asocierea poliartritei cronice evolutive poate apărea fenomenul celular LE. Anticorpii antiacid dezoxiribonucleic lipsesc, ceea ce poate explica natura benignă a bolii în raport cu lupusul eritematos diseminat.

Adesea apar autoanticorpi antitiroidieni.

În 70—75% din cazuri există autoanticorpi împotriva citoplasmei celulelor epiteliale ale canalelor salivare. Acești anticorpi sînt prezenți și în 25% din cazurile de poliartrită cronică evolutivă neînsoțite de sindrom Sjögren.

50% din bolnavi prezintă o perturbare a transformării limfocitelor în prezența fitohemaglutininei sau a streptolizinei O și o diminuare a hipersensibilității întîrziate la dinitroclorbenzen.

Nu avem date asupra rezultatelor terapiei imunosupresive medicamentoase în sindromul Sjögren. Radioterapia localizată (pe glandele lacrimale și salivare) reduce volumul glandelor (Hazel și colab., 1964, vezi *Partea a doua, capitolul 3*), însă pare să favorizeze formarea limfoamelor (62).

BOLI AUTOIMUNE MUSCULARE

Miastenia gravă

În producerea miasteniei grave intervin tulburări imunologice endocrine și un factor circulant inhibitor al transmiterii neuro-musculare la nivelul plăcii motoare.

1. Miastenia gravă e asociată adesea cu alte boli autoimune: lupus eritematos diseminat, tireotoxicoză (de două ori mai frecventă decît la restul populației), tiroidită Hashimoto subclinică, și mai puțin frecvent asociată cu poliartrita reumatoidă.

2. Histologic se remarcă frecvența mare a modificărilor timusului. Fără a exista o hiperplazie limfoidă generalizată, sînt evidente hiperplazii limfoide în timus sub forma unor foliculi germinativi, identici cu cei

Scanned with OKEN Scanner

care apar la o stimulare antigenică. Asemenea reacţii însoţesc şi alte boli, de tipul lupusului eritematos diseminat, boala Addison „idiopatică" (autoimună), hipertiroidismul.

În 15% din cazuri apar timoame. Prognosticul acestor bolnavi este sever. Modificările timice pun problema unei tulburări a funcţionalităţii sistemului imunocompetent.

Leziunile musculare şi ale plăcii motoare nu dau indicaţii asupra mecanismului patogenic.

3. Nivelul complementului seric (componentele C_2' şi C_4') scade în exacerbările simptomatologiei clinice şi revine la normal în remisiuni. Întrucît anticolinesterazele, ca şi terapia cu acetilcolinesterază, nu influenţează nivelul complementului seric, se poate presupune existenţa unei reacţii autoimune care provoacă criza de miastenie gravă şi consumă complementul seric.

4. Autoanticorpi serici musculo-timici. În serul majorităţii cazurilor de miastenie gravă există globuline de tip imunoglobuline *G* care se leagă de fibra musculară striată (tehnici de imunofluorescenţă) şi anume „*S*"-anticorpul (25% din cazuri) reacţionează cu muşchiul scheletic şi fixează complementul, şi anticorpii „*Sh*" (5% din cazuri) reacţionează cu muşchii scheletici şi cardiaci, dar nu fixează complementul.

În 99% din cazuri, *autoanticorpii musculari reacţionează cu epiteliul timusului, cu care muşchiul are antigene comune* (Geld şi colab., 1963) (citat de 25).

Practic, aceşti anticorpi antimusculari şi antitimici nu apar în serul indivizilor care nu suferă de miastenie gravă, cu excepţia pacienţilor cu timoame la care sînt decelaţi în 24% din cazuri.

Antigenicitatea încrucişată a celulelor epiteliale timice cu fibrele musculare striate se explică prin existenţa aşa-numitor celule mioide în timus, celule cu aspect de fibră musculară striată, atît la microscopul optic, cît şi electronic. Natura precisă a antigenului nu se cunoaşte.

Localizarea autoanticorpilor se află în banda *I* şi parţial în banda *A* ale sarcomerelor musculare. La nivelul plăcii motoare, locul principalei leziuni fiziologice din miastenia gravă, nu au fost decelaţi anticorpi.

Există relaţii directe între prezenţa şi titrul autoanticorpilor musculotimici şi simptomatologia clinică. În remisiuni, nivelul autoanticorpilor scade pînă la dispariţie, în exacerbări atinge valoarea maximă. Mai mult, asocierea timomului (decelată de obicei la pacienţii de 40 de ani) face obligatorie prezenţa autoanticorpilor, care în miastenia gravă fără timom apar abia la vîrsta de 50—60 de ani. Aceste date arată că miastenia gravă e o boală provocată de mecanisme autoimune umorale.

5. Autoanticorpi serici împotriva altor organe şi ţesuturi. În miastenia gravă sînt prezenţi factori antinucleari (10—37%), anticorpi antitiroidieni (15—42%), factorul reumatoid (10%).

6. Terapia imunosupresivă se impune în miastenia gravă, iar rezultatele favorabile confirmă natura autoimună a bolii. Dintre mijloacele imunosupresive, sînt utilizate:

— timectomia;

Scanned with OKEN Scanner

— iradierea localizată (a timusului sau a grupelor musculare afectate);

— corticoterapia (cu ACTH);

— antineoplazicele (6-mercaptopurina nu-şi justifică deocamdată indicaţia).

a) Locul timectomiei în tratamentul miasteniei grave a fost îndelung controversat. Actualmente este cert stabilită valoarea operaţiei la grupul reprezentat de femeile cu sindrom sever, fără timom, dar cu glande cu hiperplazii floride, sub 40 de ani (46). Anticorpii musculari tind să dispară, complementul seric revine la normal, simptomatologia se atenuează.

La bărbaţi şi femei în vîrstă, rezultatele sînt incerte; la bolnavi cu timom, prognosticul nu e ameliorat prin înlăturarea acestuia, iar autoanticorpii serici se menţin nemodificaţi (25).

Capacitatea imunologică nu e alterată la miastenicii timectomizaţi sau netimectomizaţi (testul răspunsului limfocitelor la fitohemaglutinine, la produse bacteriene, transformarea blastică şi sinteza acidului dezoxiribonucleic de către limfocite, studiul γ-globulinelor arată valori normale).

b) Iradierea maselor musculare sau a timusului (doza totală 1 200—2 000 r, surse de 1—2,7 mCu, repartizată în 15—27 de zile) ameliorează un număr variabil de bolnavi cu miastenie gravă fără timom (după Viets, Schwab, 50% din cazuri; după Santagada, 15 din 19 cazuri; alţi autori dau rezultate mai puţin optimiste, vezi *Partea a doua, capitolul 2*, şi *Partea a treia, capitolul 3).*

c) Corticoterapia este primejdioasă în miastenia gravă, deoarece produce prin ea însăşi slăbiciune musculară. Date recente arată avantajele ACTH-ului în doze mari, riscul rămînînd considerabil (Freydberg, 1959; Osserman, Genkins, 1966; Grob, Mamba, 1966).

d) Există puţine date asupra utilizării antineoplazicelor imunosupresive în miastenia gravă. Wolf şi colab. (1966) nu obţin remisiuni cu 6-mercaptopurină.

În concluzie, miastenia gravă e o boală autoimună certă. Terapia imunosupresivă e indicată în limitele menţionate mai sus. Valoarea antimitoticelor şi a serului antilimfocitar nu a fost încă dovedită.

Înmănunchierea argumentelor asupra naturii autoimune a miasteniei grave a generat mai multe teorii patogenice. Dintre ele, teoria lui Goldstein şi colab. (1966) (citat de 25) explică importanţa timectomiei faţă de celelalte mijloace imunosupresive. Autorul consideră drept punct de plecare al miasteniei grave o „timită autoimună" (analogă cu cea produsă de autori la şobolan), care ar determina eliberarea unui inhibitor al transmiterii neuro-musculare de către timusul lezat. În această ipoteză, autoanticorpii musculari nu au rol patogen decît eventual prin reacţie cu celulele epiteliale timice; astfel se explică şi lipsa miasteniei la unii bolnavi care prezintă timom şi autoanticorpi.

Astfel se explică ineficacitatea relativă a terapiei imunosupresive, care şi aşa acţionează tardiv, boala o dată declanşată şi factorii inhibitori timici (ipotetici) eliberaţi. Teoretic, trebuie precizat corect momentul instituirii tratamentului imunosupresiv.

Scanned with OKEN Scanner

Scleroza multiplă. Encefalomielita postvaccinală. Encefalita postexantematoasă

Sistemul nervos central ocupă un loc aparte în sistemul imunologic al organismului. La nivelul lui, datorită izolării anatomice parţiale a antigenelor, acestea nu vin în contact în mod curent cu elementele sistemului reticulo-histiocitar şi deci sînt autoantigene faţă de care organismul nu a elaborat o stare de toleranţă completă.

Totuşi, nu se cunosc boli autoimune ale sistemului nervos, iar scleroza multiplă şi encefalomielita postinfecţioasă sînt considerate ca atare mai mult prin analogie cu encefalopatia alergică experimentală a cobaiului (şi echivalentul ei: encefalopatia demielinizantă a maimuţei) decît prin probe directe.

Pette şi colab. (1942) (citat de 13) a emis ipoteza patogeniei comune autoimune a bolilor demielinizante, cuprinzînd formele mai acute, reprezentate de encefalomielita postinfecţioasă sau postvaccinală, pînă la lent evolutiva scleroză multiplă a măduvei spinării şi sindromul Schilder (analog sclerozei multiple). Deşi ipoteza este acceptată curent, argumentele în favoarea ei sînt sărace.

1. Encefalopatia demielinizantă a maimuţei este o boală imună certă, transferabilă prin limfocite sensibilizate, însă nu prezintă plăcile caracteristice sclerozei multiple. La om a fost reprodusă encefalopatia alergică experimentală (13) prin injecţii repetate de ţesut nervos bovin şi în cursul vaccinării la bolnavi suspecţi de rabie. În aceste cazuri, leziunile individuale sînt similare celor din scleroza multiplă, însă în cursul unui sindrom acut, nu lent progresiv.

2. Field găseşte anticorpi antiencefalici în sîngele bolnavilor cu scleroză multiplă semnificativ mai frecvent decît la normali, însă aceşti autoanticorpi sînt comuni oricăror leziuni degenerative ale sistemului nervos, sînt deci efecte, nu cauze ale bolii (13).

Testele cutanate de hipersensibilitate tardivă cu suspensie de creier sînt negative, iar cele cu tuberculină nu prezintă modificări faţă de restul populaţiei.

Deşi scleroza multiplă a fost una din primele boli încadrate în categoria sindroamelor autoimune, argumentele acumulate sînt deocamdată dintre cele mai sărace.

Nu avem date suficiente privind efectele pozitive ale medicaţiei imunosupresive în aceste boli (53 bis, 6 bis). În encefalomielita alergică experimentală s-au obţinut rezultate favorabile cu ACTH şi prednison, 6-mercaptopurină (53), ciclofosfamide şi metotrexat, ser antilimfocitar (13).

BOLILE ENDOCRINE AUTOIMUNE

Criteriile lui Burnet şi McKay (tabelul V) pentru identificarea bolilor cu patogenie autoimună sînt îndeplinite total de tiroidita Hashimoto, boala Addison prin atrofie corticosuprarenală „idiopatică", şi parţial de

Scanned with OKEN Scanner

mixedemul primar (18), de boala Graves-Basedow (36 *a*; 39; 26; 11), de tiroidita Riedel (11) şi de diabetul zaharat esenţial juvenil (3). Argumentele clinice şi experimentale care dovedesc acest lucru sînt expuse în detaliu în tratate şi recenzii recente (3; 11; 26; 36 *a*; 39). Nu revenim asupra lor deoarece endocrinopatiile beneficiază extrem de puţin de terapia imunosupresivă actuală. Mijloacele imunosupresive cunoscute sînt nespecifice, brutale şi expun la complicaţii periculoase (vezi capitolul următor), în timp ce terapia tradiţională, fie că este vorba de substituţii, fie de blocări ale sintezei hormonale sau de ablaţii chirurgicale ori prin radiaţii ale unei glande endocrine permite un control pe deplin satisfăcător al endocrinopatiilor cu mecanism autoimun, deşi este o terapie fiziopatologică şi nu etio-patogenică.

Problema nu este foarte simplă, deoarece corticoterapia de substituţie administrată în boala Addison ar putea avea şi efecte imunosupresive nedecelabile cu mijloacele actuale de investigaţie. Acest fenomen a fost evidenţiat de terapia de prevenire a respingerii organelor transplantate. Deşi se administrează doze aproape homeopatice de medicamente, întreruperea tratamentului determină respingeri acute care nu pot fi stăpînite decît cu doze mari, cu efecte imunosupresive evidente (Woodruff, 1969).

În *Partea a doua,* capitolul *„Radioterapie“*, am prezentat pe larg utilizarea roentgenterapiei în tiroidita Hashimoto, echivalată de unii autori cu o tiroidectomie, de alţii drept medicaţie antiinflamatoare şi, în sfîrşit, interpretată de unii din punctul de vedere al posibilului efect imunodepresiv local. În lipsa unor criterii de urmărire a eficacităţii tratamentului asupra proceselor imune mediate celular, importanţa acestor interpretări este de ordin academic. Cu atît mai mult cu cît în tiroidita Hashimoto roentgenterapia, ca şi extirparea chirurgicală, nu este necesară decît dacă mărimea gușii expune la tulburări prin compresiune, altfel riscul instalării unei hipotiroidii creşte prin acest tratament. Cît despre corticoterapie, ea determină regresiunea gușii şi scăderea autoanticorpilor, însă recăderile sînt o regulă la oprirea medicaţiei. Pentru regresiunea unei guşi recente, tratamentul cu hormoni tiroidieni este de altfel foarte eficace. Şi în acest caz există autori care susţin că tratamentul cu hormoni tiroidieni ar putea acţiona întrerupînd cercul vicios care întreţine procesele autoimune în glandă (26).

În boala Basedow, observarea hipertrofiei timusului şi a ganglionilor limfatici i-a determinat pe Crotti şi Halstead să asocieze timectomia la tiroidectomia subtotală în tratamentul hipertiroidiei la copil (citat de Groot, 1970). Ulterior, descoperirea LATS-ului la 80% din pacienţi (2; 36 *a*), aprecierea lui drept un autoanticorp din clasa imunoglobulinelor *G* 7 S faţă de microzomii tiroidieni (singurul autoanticorp cunoscut care stimulează (39) activitatea unei glande, fapt confirmat şi de injectarea experimentală a LATS-ului la animale) (18), prezenţa altor autoanticorpi tiroidieni aglutinanţi sau fixatori de complement, a aspectului histologic tiroidian suferind o reacţie imună de tipul hipersensibilităţii întîrziate, a determinat o reconsiderare a patogeniei bolii, fără a se putea trage însă noi concluzii terapeutice (Groot, 1970). Prezenţa LATS-ului

Scanned with OKEN Scanner

poate fi utilă în unele cazuri pentru diagnostic, însă nu pentru alegerea unei forme specifice de tratament, sau pentru a decide între tratamentul cu antitiroidiene sau cel „definitiv" chirurgical sau cu iod radioactiv.

Indicaţiile şi rezultatele corticoterapiei în boala Basedow sînt în general contestate, exceptînd problema exoftalmiei, asupra căreia vom reveni, iar alte mijloace imunosupresive sînt mai puţin eficace şi mai periculoase decît terapia tradiţională, aşa cum am remarcat deja mai sus, deşi au fost raportate şi succese în folosirea antineoplazicelor în boala Basedow [după metotrexat (61), după azatioprină (22)].

Dacă tiroidectomia subtotală sau distrugerea glandei prin iod radioactiv reprezintă un tratament imunosupresiv, prin faptul că înlătură antigenul, este o problemă discutabilă. În orice caz, reacţia imună umorală, respectiv titrul LATS-ului, creşte tranzitoriu după radioiodoterapie (31).

O problemă de o deosebită importanţă o ridică imunosupresia în complicaţiile endocrinopatiilor, pe care nu le putem controla cu mijloacele terapeutice tradiţionale, şi în primul rînd exoftalmia care însoţeşte boala Basedow. Dacă în majoritatea cazurilor aceasta se remite spontan o dată cu boala, există pacienţi la care evoluează independent, devine „exoftalmie malignă", complicaţie de temut, care apare indiferent de metoda terapeutică aplicată bolii Basedow, cel puţin dacă bolnavul nu a devenit hipotiroidian (20).

În aceste cazuri (18), tratamentul cu prednison în doze moderate, de circa 40 mg/zi, timp de 4—8 săptămîni, determină un procent de remisiuni. La alţi bolnavi, din motive necunoscute, exoftalmia continuă să progreseze, necesitînd o terapie de urgenţă cu doze enorme, imunosupresive, de prednison (circa 100—200 mg/zi), la care unii autori notează un procent de ameliorări evidente ale sindromului exoftalmic în circa 14 zile (60).

Frecvenţa mai mare cu care apare LATS-ul în boala Graves-Basedow faţă de alte forme de hipertiroidie (40; 22), ca şi remisiunea exoftalmiei sub corticoterapie, a ridicat problema unui mecanism autoimun în patogenia sindromului exoftalmic şi a utilităţii terapiei imunosupresive. Rezultatele imunosupresiei, ca şi cercetările asupra implicaţiilor LATS-ului în patogenia exoftalmiei, nu sînt încurajatoare.

În primul rînd, corelaţia dintre prezenţa LATS-ului şi apariţia sindromului exoftalmic nu e clară: LATS-ul e asociat mai degrabă cu numărul manifestărilor hipertiroidiei decît cu un semn individual al bolii, cum este exoftalmia (33). Unii bolnavi au exoftalmie severă, deşi LATS-ul seric e nedecelabil (37), iar la majoritatea lor nu există nici o corelaţie între titrul LATS-ului şi evoluţia oftalmopatiei (37). Administrarea LATS-ului nu produce exoftalmie experimentată, deşi determină alte semne de hipertiroidie (18). În ţesutul orbitar nu a putut fi identificat LATS-ul, şi nici nu a putut fi adsorbit LATS-ul plasmatic cu fragmente de ţesut orbitar (51).

În al doilea rînd, tratamentul cu azatioprină (2 mg/kilocorp şi chiar 150—300 mg/zi în cure prelungite) nu s-a însoţit de reducerea clară a exoftalmiei (7; 22; 18). S-au citat cazuri în care nivelul LATS-ului seric

Scanned with OKEN Scanner

a scăzut (22) și au apărut semne imunologice de imunosupresie (7) fără ca exoftalmia să se atenueze. Aceste date sugerează că însuși beneficiul corticoterapiei în doze masive se datorește, probabil, unui efect antiinflamator și nu imunosupresiv.

Unii autori (8; 4) susțin că au obținut atenuarea sindromului exoftalmic prin ablație tiroidiană totală (chirurgicală sau/și prin iod radioactiv). Ei explică acest succes prin faptul că au înlăturat țesutul antigenic care întreține procesul autoimun responsabil de exoftalmie (18; 4). Alți autori nu pot să confirme aceste rezultate (61; 65), sau chiar notează agravarea sindromului exoftalmic în aceste condiții (47), probabil prin trecerea antigenelor tiroidiene în circulație.

În orice caz e greu de luat o atitudine fermă în stabilirea utilității unui anumit mijloc terapeutic într-o boală pe care încă nu o putem controla, care are remisiuni spontane, și la care orice discretă ameliorare poate fi considerată un succes.

În concluzie, în bolile endocrine, aplicarea terapiei imunosupresive nespecifice, de care dispunem actualmente, se lovește de aceleași dificultăți ca și pentru celelalte boli autoimune (vezi mai departe, capitolul 3), iar eficacitatea mijloacelor terapeutice tradiționale restrînge și mai mult în endocrinologie indicația și utilitatea medicației imunosupresive.

BIBLIOGRAFIE

1. *Abramowicz M., Barnett H., Edelman C. Jr., Greifer I., Kobayashi O., Arneil G., Barron B., Gordillo P. G., Hallman N., Tiddens H.* — Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. *Lancet,* I, 1970, 7 654 : 959-961.
2. *Adams D., Purves H.* — Abnormal responses in the assay of thyrotrophin. *Proc. Univ. Otaja. Med. School,* 1956, 34, 11.
3. *Anderson J. R.* — Autoallergy in diseases of the liver, adrenal, pancreas and prostate, *in:* P. Gell, R. Coombs — Clinical aspects of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, 1 063-1 143.
4. *Baver F., Catz B.* — Radioactive iodine therapy for progressive malignant exophthalmos. *Acta Endocrinolog.,* 51, 15, 1966.
5. *Bluestone R., Goldberg L. S., Cracchiola A.* — Hidden rheumatoid factor in seronegative nodular rheumatoid arthritis. *Lancet,* 1969, 2: 878—879.

5 bis. *Broder I., Urowitz M. B., Gordon D. A.* — Appraisal of rheumatoid arthritis as an immune complex disease. *Med. clin. North Amer.,* 1972, 56, 529.

6. *Brooke B. N., Hoffmann D. C., Swarbrick E. T.* — Azathioprine for Crohn's disease. *Lancet,* II, 1969, 7 621: 612—614.

6 bis. *Brendel W.* — Communication at ALS workshop. First international congress of immunology, Washington, D. C. August, 1971.

7. *Burrow G. N., Mitchell M. S., Howard R. O., Morrow L. B.* — Immunosuppressive therapy for the eye changes of Grave's disease. *J. clin. Endocr.,* 1970, 31: 307.
8. *Catz B., Perzik S. L.* — Subtotal vs. total ablation of thyroid: Malignant exophthalmos and its relation to remanent thyroid, *in:* Cassam C., Andreoli M. (eds) — Current topics in thyroid research. New York, Academic Press, 1965.
9. *Chanarin I.* — The stomach in allergic disease, *in:* P. Gell, R. Coombs — Clinical aspects of immunology, Blackwell, Oxford, 1968, 1 020—1 033.

Scanned with OKEN Scanner

33. *Lipman L. M., Green D. E., Snyder N. J., Nelson J. C., Solomon D. N.* — Relationships of long-acting thyroid stimulator to the clinical features and course of Grave's Disease. *Amer. J. Med.*, 1967, 43, 486.
34. *McKay I. R. Burnet F. M.* — Autoimmune diseases, C. Thomas (ed.), Springfield, Illinois, 1963.
35. *McKay I. R.* — Chronic hepatitis. Effect of prolonged suppressive treatment and comparison of azathioprine with prednisolone. *Quart. J. Med.*, 1968, 37: 379—392.
36. *McKenzie J. M.* — Humoral factors in the pathogenesis of Grave's disease. *Physiological Review*, 1968 *a*, 48, 252.
37. *McKenzie J. M., Cullagh Mc. E. P.* — Observations against a causal relationship between the long-acting thyroid stimulator and ophthalmopathy in Grave's Disease. *J. Clin. Endocr.*, 1968 *b*, 28, 1 177.
38. *Mellors R., Heimer R., Corcos J., Korngold L.* — Cellular origin of rheumatoid factor. *J. Exper. Med.*, 1959, 110: 875.
39. *Munro D.* — Thyroid stimulating hormone, the long-acting thyroid stimulator and exophtalmous producing substance in thyroid disease, *in:* Modern trends in endocrinology, Gardiner Hill, London, 1967, p. 84—111.
40. *Noguchi A., Kurihara H., Sato S.* — Clinical studies on the long-acting thyroid stimulator. *J. clin. Endocr.*, 1964, 24, 160.
40 bis. *Nossa L., Mureşan T., Marcu A., Abrudeanu O.* — Preparation of antihuman lymphocyte serum by immunisation with unvariable lymphoid cells obtained from a cadaver and stored for 3 month in a frozen state. *Nature*, 1969, 222, 1 082.
41. *Page A. R., Condie R. M., Good R. A.* — Suppression of plasma cell hepatitis with 6-mercaptopurine. *Amer. J. Med.*, 1964, 36, 200.
42. *Parish W. E., Pepys J.* — The lung in allergic diseases, *in:* P. Gell, R. Coombs — Clinical aspects of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, 979.
43. *Paul Mc. J. J., Dixon F. J.* — Immunoreactive basement membrane antigens in normal human urine and serum. *J. Exp. Med.*, 1969, 130: 1 395.
44. *Pearson C. M.* — Adjuvant induced arthritis. An immunologic model of articular and connective tissue disease, abstracted. *Clin. Res.*, 1969, 17: 468.
45. *Perlmann P., Hammarström S., Lagercrantz R., Gustafsson B.* — Antigen from colon of germ free rats and antibodies in human ulcerative colitis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1965, 124, 377.
46. *Perlo V., Poskanzer D., Schwab R., Viets H., Osserman K., Genkins G.* — *Myasthenia gravis:* evaluation of treatment in 1 355 patients. *Neurol.*, 1966, *16*, 431.
47. *Pinchera A., Liberti P., Martino E., Fenzi G. F., Grasso L., Rovis L., Baschieri L.* — Efects of antithyroid therapy on the long-acting thyroid stimulator and the antithyroglobulin antibodies. *J. Clin. Endocrinol.* 1969, 29, 231.
48. *Pirofsky B., Bardana E. J., Bayracki C., Porter G. A.* — Antilymphocyte antisera in immunologically mediated renal disease. *J. A. M. A.*, 1969, 210; 6: 1 059—1 068.
49. *Richmond J., Woodruff M. F. A., Cumming R. A., Donald K. W.* — A case of idiopathic thrombocytopenia and autoimmune hemolytic anemia treated by thymic irradiation and by administration of imuran and actinomycin *C. Lancet*, 1963, 2: 125—128.
50. *Scheiffarth F., Warmatz H.* — Langzeitbehandlung von Immunopathien unter besonderer Berücksichtigung immunosuppressiver Medikamente. *Dtsch. med. Wschr.*, 1969, *94*, 47, 2 444.
51. *Shillinglaw J., Utinger R. D.* — Failure of retroorbital tissure to neutralize the biological activity of the long-acting thyroid stimulator. *J. Clin. Endocrinol.*, 1968, 28, 1 069.
52. *Schmähl D.* — Karzinogenese und Immunodepression. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1971, 96, 1 771.
53. *Schwartz R., Stack J., Dameshek W.* — Effect of 6-mercaptopurine on antibody production. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1958, 99: 164—173.

Scanned with OKEN Scanner

2

A. TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ SPECIFICĂ ÎN CLINICĂ: PREVENIREA IZOIMUNIZĂRII Rh

Prevenirea izoimunizării Rh cu globuline umane anti-*D* este o metodă de imunosupresie specifică, prin administrare de anticorpi şi inhibarea prin *feedback* a procesului imun (9; 17). Metoda a fost propusă în 1960 de Finn (7; 8) şi impusă în clinică mai ales datorită lui Clarke (2). Actualmente este larg acceptată, verificată în numeroase centre, fiind limitată numai de dificultatea de a obţine globulina umană anti-*D*. În ţara noastră, începînd din 1970, Maternitatea Filantropia (Zervos G. Bianu V.), în colaborare cu Centrul de Hematologie (Kondi V., Bălan St.) a urmărit un număr de peste 1 000 de femei Rh negative, neimunizate, din care 400 au beneficiat de tratamentul profilactic cu imunoglobulină anti-*D* românească.

PATOGENIA INCOMPATIBILITĂŢII Rh

Sistemul Rh cuprinde cel puţin trei serii alele de antigene: *Dd, Cc, Ee*. Antigenul *D* (sau Rh_0) conferă caracterul Rh pozitiv al individului. În rasa albă există 85% din subiecţi Rh pozitivi şi 15% Rh negativi. Izoimunizarea în acest sistem, descrisă în 1941 de Levine, apare cel mai frecvent în condiţiile sarcinilor cu feţi Rh pozitivi, la mame Rh negative. Celulele fetale purtînd antigenele moştenite de la tată intră în circulaţia maternă transplacentar (s-a susţinut că acest lucru se petrece numai la naştere, printr-o abundentă hemoragie transplacentară, lucru infirmat actualmente; vezi 16; 10). Dacă celulele mamei nu conţin antigenele respective*, în organismul ei apar anticorpi care trec transplacentar în circulaţia fetală, lezînd celulele fătului şi provocînd eventual *eritroblastoza fetală*, bine cunoscută în clinică. Momentul formării anticorpilor este actualmente studiat atent, deoarece constituie un indice de bază în conducerea tratamentului profilactic (vezi mai jos).

* Există şi situaţii în care apar anticorpi anti-*D* la mame *D*+ (Weiner, 1968).

Scanned with OKEN Scanner

Protecția naturală împotriva sindromului hemolitic Rh de către incompatibilitatea ABO este un fenomen imunologic cert dovedit.

Există tendința de a se explica simplist acest fenomen, prin distrugerea rapidă a celulelor Rh pozitive ale fătului — incompatibile în sistemul *ABO* cu mama — de către anticorpii naturali anti-*A* sau anti-*B* ai mamei. Dar e neclar, de ce această distrugere le face non-antigenice. Alte ipoteze susțin existența unei suprasarcini la care sînt supuse celulele imunocompetente splenice solicitate de două grupe de antigene competitive. În sfîrșit, celulele Rh pozitive *ABO* incompatibile ar fi protejate de anticorpii anti-*A* sau anti-*B* (2). Aviditatea unității de recunoaștere a antigenului (macrofagul) e mai mică în comparație cu capacitatea de recunoaștere a anticorpului (5).

BAZELE TEORETICE ALE PROTECȚIEI PRIN ANTICORPI PASIVI

Deși nu se cunoaște precis mecanismul protecției, principiul de acțiune al anticorpilor administrați pasiv în prevenirea imunizării este cert cunoscut din experimentele pe animale.

Anticorpii pasivi inhibă la nivel central, printr-un mecanism de *feedback*, producția de anticorpi (astfel, antitoxina difterică blochează producția de anticorpi declanșată de injectarea toxoidului difteric, deși cantitatea de antitoxină este mult inferioară cantității de antigen și nu-l poate inactiva prin lezare: Baumann, 1961 — citat de 2). Imunoglobulina *G* pare mai eficientă decît imunoglobulina *M* (ambele administrate intravenos) (Finkelstein și colab., 1964) (citat de 2). La animale, rolul protector al anticorpilor pasivi se exercită dacă sînt injectați atît la 24 de ore după antigen, cît și la 6—8 zile (3). Aceste date, extrapolate la om, ar sugera că serul anti-*D* ar putea preveni creșterea titrului anticorpilor la o femeie deja izoimunizată. Acțiunea supresivă a anticorpilor pasivi administrați este specifică (3).

În al doilea rînd, anticorpii pasivi blochează locusurile antigenice corespunzătoare de pe celulele străine organismului. Dacă celulele Rh pozitive sînt amestecate cu anticorpi anti-*D* incompleți și apoi injectate la oameni Rh negativi, formarea anticorpilor imuni este prevenită (15). Acest fenomen depinde de cantitatea de anticorpi injectați, care reacționează cu antigenul reversibil, pe baza legii acțiunii maselor.

În concluzie, imunoglobulina *G* (7 S) acționează la nivel central, și prin cuplare cu antigenul, ca un *feedback* negativ al propriei sale producții. Asupra anticorpilor deja formați nu are nici un efect, de aceea se aplică în clinică numai ca mijloc profilactic.

TEHNICA PREVENIRII IZOIMUNIZĂRII Rh CU ANTICORPI ANTI-D

Prevenirea izoimunizării Rh constă în a injecta mamelor Rh negative neimunizate, care au copii Rh pozitivi, *ABO* compatibili, γ-globulină anti-*D* (intramuscular) sau plasmă imună (intravenos) în primele

Scanned with OKEN Scanner

48—72 de ore de la naștere (2) sau în a le injecta în săptămîna a 34-a a sarcinii și din nou la naștere (18; 1; 10).

Momentul administrării depinde de data la care apar anticorpii Rh la femeia însărcinată. Tradițional se considera că izoimunizarea nu apare în cursul primei sarcini, ci abia în cele 6 luni de după prima naștere, în cursul căreia, în momentul expulziei, are loc transfuzarea transplacentară de sînge fetal (de obicei 0,10—0,50 ml; 13). În realitate, date recente obținute cu teste sensibile arată că 3,5% din femeile cu aglutinine anti-Rh le-au format în cursul primei sarcini. Frecvența anticorpilor este de 5,6% la prima sarcină, de 5% la a doua, de 5,9% la a treia și atinge 14,6 și 15,4% la sarcinile a patra și a cincea (10). Deci, riscul de a apărea izoimunizarea este, practic, același în timpul primei sarcini ca și la a doua sau la a treia.

Ca urmare, unii autori susțin că γ-globulina anti-*D* trebuie administrată, nu în cele 48 de ore de la naștere (cum face Clarke), ci în săptămîna a 34-a, la toate femeile Rh negative căsătorite cu bărbați Rh pozitivi. A doua injecție se efectuează dacă sînt născuți copii Rh+, compatibili *ABO* (10; 18; 1).

Doza necesară. Programul prevenirii izoimunizării Rh este dificil de realizat practic, din cauza dificultăților de procurare a imunoglobulinelor umane anti-*D*. (Aceasta implică existența unor voluntari Rh negativi, care să fie izoimunizați cu sînge Rh pozitiv.) De aceea este în studiu fixarea dozei minime necesare.

Inițial, posologia era de ordinul a 1 000—5 000 micrograme γ-globulină anti-*D*, cu eficacitate totală, ulterior 300 μg cu aceleași efecte excelente. Experimentul lui Polack și colab. (14) pe bărbați voluntari Rh negativi, cărora li s-au injectat 10 ml sînge din grupa 0 Rh+, arată că γ-globulina anti-*D*, în doze de 300; 600 sau 1 200 μg, injectată după 24 de ore, previne izoimunizarea la toți cei tratați (au fost urmăriți timp de 9 luni de zile după injectare). Grupul de control netratat prezintă izoanticorpi în 6 din 10 cazuri.

Încercări de a reduce doza sub 300 μg au fost efectuate de Dudok și colab. (6), care obțin 99,1% succese cu 250 μg γ-globulină anti-*D* injectată în momentul nașterii. Godel și colab. (10) consideră că 145 μg (0,5 ml) sînt suficiente, administrate în săptămîna a 34-a la o femeie Rh negativă fără anticorpi decelabili.

Dozele acestea sînt ineficiente în caz de hemoragii transplacentare mari. La cantități de 170—200 ml sînge Rh pozitiv, profilaxia izoimunizării este eficientă abia la 1 000 μg γ-globulină anti-*D* sau 370 ml de sînge imun. S-a sugerat — studiind capacitatea de combinare a antigenelor anti-*D* cu antigenele eritrocitelor umane — că o hemoragie transplacentară masivă, de vreo 400 ml, solicită drept tratament profilactic al izoimunizării circa 10 000 μg γ-globulină anti-*D*. Această cantitate va fi dată în doze fracționate, urmărind continuu starea clinică, pentru a depista un eventual icter hemolitic (12).

Scanned with OKEN Scanner

REZULTATE

La 6 luni după prima naștere, administrînd γ-globuline anti-*D* umane (1 sau 5 ml), sînt izoimunizate 4 femei Rh negative din 1 882 femei tratate. În grupul martor, netratat, apar izoanticorpi la 149 de femei (7%) din 1 857.

După a doua sarcină cu copil Rh pozitiv, mamele tratate profilactic sînt izoimunizate în proporție de 1 la 244, iar în grupul martor apar anticorpi la 41 de femei (13%) din 284 (2).

Studiind cauzele a 13 eșecuri, Clarke le împarte în două: cinci eșecuri fără motiv aparent și opt prin subdozaj în cadrul unor hemoragii masive la naștere. Procentul eșecului profilaxiei cu imunoglobulină anti-*D* nu depășește 2%, iar cazurile fără motiv aparent sînt explicate actualmente prin faptul că mamele Rh negative sînt deja imunizate Rh în momentul injectării imunoglobulinei anti-*D*, dar au anticorpi nedemonstrabili prin metodele *in vitro* de care dispunem actualmente (11).

Injectarea γ-globulinelor anti-*D* poate provoca ocazional reacții locale. Mama receptoare poate fi imunizată față de substanțele din γ-globulina însăși; s-au citat cazuri în care au apărut anticorpi anti-γ-globulină la șase luni după tratament. Pentru feți nu există riscuri (9). Folosind γ-globuline anti-*D*, ele sînt obținute prin fracționarea plasmei umane conținînd un titru ridicat de anticorpi anti-*D* și riscul de a transmite hepatita serică e evitat. Acest risc există folosind plasma sau serul voluntarilor imunizați natural sau artificial.

LIMITAREA INDICAȚIILOR PROFILAXIEI CU GLOBULINĂ ANTI-D

Administrarea globulinelor anti-*D* la toate mamele Rh negative (în cazul profilaxiei precoce din cursul sarcinii) sau la toate mamele Rh negative care au născut copii Rh pozitivi (circa 8% din gravide) pretinde mari cantități de plasmă umană anti-*D*, cu titrul anticorpic minim de 1/512. La acest titru, un litru de plasmă permite obținerea a 10—20 doze de γ-globulină în concentrații echivalînd cu 250—300 μg anticorpi (13). Deocamdată, nici o țară nu dispune de cantitatea de globuline anti-*D* necesară profilaxiei generalizate, de aceea se impune preselectarea femeilor amenințate de imunizarea Rh, și anume: *a*) primipare care nasc un copil Rh+ *ABO* compatibil și în circulația cărora există hematii fetale, expresie a unei transfuzii transplacentare de sînge (metoda Kleihauer sau Nierhaus, Betke); *b*) manevre obstetricale care favorizează transfuzia transplacentară de hematii: dezlipire manuală a placentei, cezariană, vidextracție, amniocenteză, toxemie gravidică tardivă; *c*) femei Rh negative care avortează un făt Rh pozitiv sau un făt la care grupa sanguină n-a putut fi determinată (2).

În concluzie, profilaxia izoimunizării Rh cu anticorpi umani anti-*D* este o metodă imunosupresivă specifică, de o deosebită eficiență,

Scanned with OKEN Scanner

bazată pe realizarea unui *feedback* negativ central şi periferic asupra procesului imun.

Pe baza asemănărilor dintre serul anti-*D* şi serul antilimfocitar (amîndouă atacă eritrocitele sau limfocitele, fie distrugîndu-le fie mascîndu-le proprietăţile imunologice), Clarke sugerează posibilitatea de a folosi γ-globuline umane antidonator pentru a preveni formarea anticorpilor antigrefă, cu mai mult succes decît actuala administrare a serului antilimfocitar heterolog (2).

Profilaxia izoimunizării Rh prin administrarea anticorpilor umani anti-*D* este deocamdată greu de realizat, datorită dificultăţilor de procurare a imunoglobulinelor umane anti-*D*.

BIBLIOGRAFIE

1. *Chown B.* — Prevention of Rh hemolytic disease. *Can. Med. Ass. J.*, 1967, 97, 1 294.
2. *Clarke C. A.* — Prevention of rhesus iso-immunisation. *Lancet*, 1968, 2: 1—7.
3. *Dixon F. J., Jacot-Guillarmond J., McConahey P. J.* — The effect of passively administered antibody on antibody synthesis. *J. exp. Med.*, 1967, 125, 1 119.
4. *Davey M. G.* — Failures of Rh Immunoprophylaxis. *Lancet*, 1971, 1, 1 130.
5. *Dresser D. W., Mitchison H. A.* — The mechanism of immunological paralysis. *Adv. Immun.*, 1968, 8, 129.
6. *Dudok De Wit C., Borst-Eilers E., Weerdt Ch., Klooster-man G.* — Prevention of Rhesus immunization. A controlled clinical trial with a comparatively low dose of anti-*D* Immunoglobulin. *Brit. med. J.*, 1968, 4, 477.
7. Finn R. — Erythroblastosis. *Lancet*, 1960, 1, 526.
8. *Finn R., Clarke C., Donohoe W., McConnel R., Sheppard P., Lehane D., Kulke W.* — Experimental studies on the prevention of Rh haemolytic disease. *Brit. Med. J.*, 1961, 1 : 1 486.
9. *Gell P., Coombs R.* (ed.) — Introductory chapter, *in*: P. Gell, R. Coombs — Clinical aspects of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, 776.
10. *Godel J. C., Buchanan D., Jarosch J., McHugh N.* — Significance of Rh-sensitization during pregnancy; its relation to a preventive programme. *Brit. med. J.*, 1968, 4, 479.
11. *Jorgensen J., Freisleben E.* — Failures of Rh Immunoprophylaxis. *Lancet*, 1971, 1, 78.
12. *Mollison P. L.* — Suppression of Rh immunisation by passively administered anti Rh. *Brit. med. J.*, 1968, 14, 1.
13. *Pino F.* — Incompatibilités foeto-maternelles. Problèmes actuels. *Gaz. Med. Fr.*, 1969, 76, 7: 1 337—1 351.
14. *Pollack W., Singher H., Gorman J., Freda V.* — Report given at meeting of the American Association of Blood Bunks., 1967.
15. *Stern K., Goodman H., Berger M.* — Experimental isoimmunization to hemoantigens in man. *J. Immun.*, 1961, 87, 2: 189.
16. *Weiner W.* — Haemolytic disease of the new-born and other conditions following iso-imunization, *in*: P. Gell, R. Coombs — Clinical aspect of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, 776—804.
17. *Woodruff M. F. A., Nolan B., Robson J. S., McDonald M. K.* — Experience with renal transplantion in man. *Lancet*, I, 1969, 6.
18. *Zipursky A., Israels L.* — The pathogenesis and prevention of Rh immunization. *Can. med. Ass. J.*, 1967, 97, 21: 1 245.

Scanned with OKEN Scanner

3

B. TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ ÎN BOLILE CU MECANISM PATOGENIC AUTOIMUN

În clinica medicală, aplicarea medicației imunosupresive se limitează, în general, la așa-numitele boli autoimune, stări patologice rezultate din interacțiunea în interiorul organismului a anticorpilor sau celulelor imunocompetente cu determinanți antigenici purtați de componentele propriului corp (Burnet, 1967).

Printr-un mecanism incomplet clarificat, toleranța față de componentele organismului propriu se rupe și are loc o autoagresiune identică reacțiilor imune față de *non-self*.

Obiectivul terapiei imunosupresive îl constituie scăderea reactivității organismului la autoantigene.

Mecanismele cele mai probabile de producere a procesului autoimun sînt expuse în *Partea întîi, capitolul 3* (vezi tabelul I).

Există posibilitatea să intervină un singur mecanism sau mai multe, asociate, iar răspunsul la terapia imunosupresivă să fie diferențiat în funcție de mecanismul patogenic. În orice caz, în toate bolile de autoagresiune, prin definiție, suprimarea procesului imun ar trebui să atenueze procesul patologic.

CRITERII CLINICE DE APLICARE A TERAPIEI IMUNOSUPRESIVE

Realitatea clinică e mai complexă decît experimentele pe animale.

1. Imunosupresia totală, obținută în condiții experimentale, nu e compatibilă cu viața, deoarece mijloacele terapeutice actuale, citotoxice nespecifice, lezează ireversibil toate organele cu mare putere de regenerare celulară: măduva osoasă, gonadele, epiteliul intestinal. *Dozele utilizate în clinică trebuie să fie mult mai mici.* Dar chiar aceste doze reduse antrenează numeroase efecte secundare precoce (deprimare a măduvei osoase, complicații gastro-intestinale, infecții) și tardive (potențial tera-

Scanned with OKEN Scanner

togen, oncogen, tulburări hepatice, fibroze pulmonare, neurotoxic) (vezi mai departe).

2. Există criterii de diagnostic al unui proces autoimun (vezi *Partea a treia, capitolul 1*). Însă, în majoritatea cazurilor nu putem să dovedim că reacția imună declanșează boala (factor etiologic) și / sau o întreține (factor patogenic) ori este o rezultantă a bolii fără semnificație (factor asociat). Suprimarea procesului imun e utilă pacientului numai în primele două alternative.

Cînd procesul autoimun reprezintă rezultatul, nu cauza leziunii (de exemplu, în hepatita toxică, în infarctul miocardic* etc.), terapia imunosupresivă va ameliora doar probele de laborator, dar nu starea clinică. Mai mult, pot apărea autoanticorpi în afara oricăror leziuni tisulare decelabile: de exemplu, anticorpii Wassermann care reacționează cu constituentul fosfolipidic mitocondrial (cardiolipinic) și apar frecvent după infecții virale (110). Deoarece nu avem metode de a urmări dinamic în clinică procesele autoimune, rolul lor în patogenia bolii poate fi interpretat diferit. De exemplu, lupusul eritematos diseminat face parte dintre bolile care întrunesc cele mai multe argumente pentru a fi considerate boli autoimune. Totuși nu s-a dovedit dacă: *a*) procesul autoimun e cauza bolii; *b*) reprezintă un mecanism de distrugere tisulară care nu a contribuit la leziunea inițială; *c*) reprezintă o consecință a leziunii tisulare fără implicații etio-patogenice; *d*) este un proces independent de leziunea caracteristică bolii, care nu reprezintă nici cauza, nici rezultanta acesteia.

Teoretic, medicația imunosupresivă nu e indicată decît în bolile cu mecanism patogenic imun. În viitor s-ar putea chiar ca tipul medicamentului imunosupresiv să fie ales în funcție de particularitățile imunologice ale bolii. De exemplu: anemia hemolitică la rece este asociată cu anticorpi de tip imunoglobuline *M* monoclonali, pe cînd în anemia hemolitică cu anticorpi la cald există imunoglobuline *G* (118); în tiroidite și în encefalita alergică experimentală, reacția imună e mediată celular, de limfocite sensibilizate; în orhita experimentală există mecanisme mixte, umorale și celulare etc. Pe de altă parte dispunem de date — ce-i drept, sărace — privind particularitățile de acțiune ale unor tipuri de medicamente imunosupresive: serul antilimfocitar acționează simultan asupra imunității umorale și celulare (cu predominanță asupra ultimei), în timp ce azatioprina ar interfera numai formarea anticorpilor (108); 6-mercaptopurina scade răspunsul anticorpic 7 S, fără să afecteze producția de 19 S (Sahiar, 1964) (citat de 110) etc.

În etapa actuală se discută indicația imunosupresoarelor pe baza existenței unor procese autoimune; alegerea tipului de medicament în funcție de particularitățile procesului imun e o problemă de viitor.

---

* Există sindroame postinfract și postcardiotomie în care apar autoanticorpi anticardiaci în episoadele simptomatice, dispărînd în intervalele libere (Kaplan și colab., 1969), însă frecvența acestor sindroame față de totalul infarctelor, ca și efectele secundare ale medicației imunosupresive, fac inutilă profilaxia lor și testarea precoce a purtătorilor de autoanticorpi cardiaci.

Scanned with OKEN Scanner

3. Nu există dovezi convingătoare că ameliorarea clinică a afecțiunilor așa-zis imune se datorește efectului imunosupresiv în sine sau unei acțiuni asociate (antiinflamatoare, mezenchimostatice, antivirale etc.).

Toate mijloacele imunosupresive de mare eficacitate (corticoterapia, antimitoticele, roentgenterapia și chiar serul antilimfocitar) au o activitate antiinflamatoare aparent independentă de acțiunea asupra răspunsului imun (cel puțin în măsura în care testele utilizate în clinică pot evidenția procesele imune). S-a dovedit că mijloacele actuale de investigare nu au decelat nici un efect al glucocorticoizilor administrați în doze medii asupra anticorpilor umorali, deși diverse boli autoimune beneficiază de 20 de ani de corticoterapie (27). Efectul inhibitor al corticoterapiei apare cert la dozele mari, imunosupresive, utilizate în experimentele pe animale sau în respingerea grefelor (vezi *Partea a doua, Corticoterapia*).

La fel, dozele de substanțe antimitotice, utilizate în curele prelungite cu imunosupresoare, sînt homeopatice față de cele administrate în reacțiile de respingere a organelor transplantate și în experimentele pe animale. La aceste doze, ameliorarea clinică e rareori însoțită de vreo modificare a titrului autoanticorpilor (de exemplu, factorul reumatoid din poliartrita reumatoidă nu e influențat semnificativ de curele cu azatioprină); în hepatita cronică tratată cu 6-mercaptopurină, Page (79) obține atenuarea semnelor clinice și biochimice ale bolnavilor, în absența oricărui efect demonstrabil asupra hipersensibilității întîrziate sau a producției de anticorpi. În lotul lui Page, nici răspunsul inflamator, studiat cu tehnica ferestrei cutanate, nu e modificat (79).

În realitate, studii atente, efectuate asupra pacienților cu boli autoimune, au arătat că terapia imunosupresivă scade răspunsurile organismului supus unor probe imune speciale (toxoid difteric, reacție întîrziată la injecția intradermică de hemocianină), deși lasă aparent neinfluențate fenomenele imune considerate caracteristice bolilor respective (de exemplu, factorul reumatoid în poliartrita cronică evolutivă, anticorpii antinucleari în lupusul eritematos). Astfel, Swanson și Schwartz (1967) au studiat 20 de pacienți cu boli autoimune supuși chimioterapiei imunosupresive cu antimitotice (106). Toate reacțiile imune studiate au fost modificate de terapie (răspunsul imun primar măsurat prin producția de anticorpi împotriva hemocianinei; răspunsul secundar reprezentat de producția de anticorpi de tip imunoglobuline *M* și imunoglobuline *G* împotriva toxoidului difteric; hipersensibilitatea de tip întîrziat obținută cu o injecție intradermică de hemocianină; imunoglobulinele sanguine și izoaglutininele sanguine). La trei bolnavi, sinteza anticorpilor crește, la 13 producția imunoglobulinelor *G* e inhibată selectiv. Reacțiile anamnestice și reacțiile de tip tardiv au dispărut sau au diminuat în toate cazurile.

Totuși, nu există nici o corelație între competența imunologică și rezultatul acțiunii terapeutice, măsurat după criteriile simptomatologiei clinice.

4. Actualmente nu există teste sigure de evidențiere a efectelor imunosupresive, iar în conducerea terapiei imunosupresive și în aprecierea

Scanned with OKEN Scanner

eficienței ei se utilizează exclusiv criterii clinice, simptomatice. În cursul tratamentului se practică cu regularitate și o serie de determinări hematologice și biochimice, pentru a decela efectele secundare ale imunosupresoarelor.

După cum am menționat, fenomenele imunologice clasic cunoscute care însoțesc bolile autoagresive — cum ar fi anticorpii antinucleari în lupusul eritematos sau factorul reumatoid în poliartrita cronică evolutivă — sînt nesemnificativ influențate de terapie, cînd se obține o remisiune clinică completă.

Vor trebui găsite criterii certe de urmărire a procesului patologic autoimun. Pînă atunci, în clinică, prescrierea terapiei imunosupresive se bazează pe ipoteze și pe observația empirică a atenuării unor boli sub efectul corticoterapiei, azatioprinei, roentgenterapiei, splenectomiei etc.

Cunoscînd caracteristicile procesului autoimun, se pot imagina următoarele posibilități de a-l urmări:

a) puncții-biopsie repetate în bolile autoagresive organospecifice, pentru a observa evoluția leziunilor și a infiltratului limfo-plasmocitar. Această metodă — utilă în afecțiunile renale și larg răspîndită și verificată în transplantele de organe (în transplante este criteriul de certitudine al efectului imunosupresiei asupra respingerii grefei) — nu poate fi utilizată în bolile autoimune sistemice (de exemplu, poliartrita reumatoidă), nici dacă procesul agresiv are loc în organe foarte vascularizate, a căror puncționare e periculoasă (de exemplu, tiroidita) sau în organe inabordabile (de exemplu, encefalopatia demielinizantă, atrofia corticosuprarenală idiopatică);

b) evidențierea complexelor imune la locul leziunii, cu tehnica imunofluorescenței, se izbește de aceleași dificultăți;

c) dozarea complementului și a imunoglobulinelor reprezintă teste orientative;

d) fără a intra în practica clinică curentă, s-au studiat o serie de teste pentru aprecierea indicațiilor, dozelor și duratei terapiei imunosupresoare.

Dintre testele utilizate *in vivo* menționăm: injectarea unui antigen străin unic (TAB sau, mai frecvent utilizate, eritrocitele de berbec), urmărind reacțiile imune la scară celulară prin testul plăcilor de hemoliză sau prin testul rozetelor; efectuarea unor homografe cutanate simultan cu administrarea medicației imunosupresive (dificil de executat ca test de rutină în clinică); alte teste sînt foarte elaborate, de interes mai mult farmacologic: grefa celulelor limfoide imunizate la receptori imunocompetenți, urmată de tratamentul cu medicamentul de studiat etc.

Testările *in vitro* au avantajul simplității. Testul transformării limfocitelor *in vitro* sub acțiunea fitohemaglutininelor a pus în evidență efectul corticoizilor și al clorochinei, de protecție a lizozomilor (2), și a fost propus de Warnatz (1969) pentru conducerea tratamentului în bolile autoimune (109). Testul inhibării migrației limfocitelor umane, care au tendința spontană de a forma rozete cu globulele roșii heterospecifice, este deja utilizat în transplantele de organe.

Scanned with OKEN Scanner

Nici una din aceste probe nu a contribuit la descoperirea vreunui medicament imunosupresiv utilizabil în clinica umană, cel mai eficient drog rămînînd primul aplicat în terapeutică: azatioprina (2). În plus, aceste teste explorează modificările reactivității imune generale a organismului bolnav supus tratamentului imunosupresiv, dar nu dau indicații precise asupra proceselor autoimune specifice bolii respective.

Găsirea unor teste imunologice adecvate, specifice, este un obiectiv de prim ordin pentru progresul terapiei bolilor autoagresive.

Testele hematologice săptămînale la care sînt supuși bolnavii tratați cu antimitotice sau radiații nu ne dau indicații asupra acțiunii imunosupresoare, ci asupra efectelor secundare (vezi mai departe).

5. Momentul administrării. Experimente pe animale, ca și rezultatele observate în transplantele de organ, au arătat că maxima eficiență imunosupresivă a unui preparat se obține administrîndu-l în perioada inductivă a formării de anticorpi, deci între momentul apariției antigenului în organism și acela al apariției primilor anticorpi sau primelor limfocite sensibilizate.

În tratamentul bolilor autoimune, profilaxia răspunsului primar este imposibilă. Nu putem cunoaște momentul în care se formează autoantigenul; de obicei, pacientul sosește cu boala autoagresivă manifestă, deci cu procese imune primare și secundare în plină desfășurare, cu manifestări dependente de mecanismul efector (alergic, complexe imune, anticorpi citotoxici și mai ales reacții de tip tardiv mediate celular).

Imunosupresia se exercită mai dificil în condițiile în care producția anticorpilor și a limfo-plasmocitelor sensibilizate a avut deja loc. Efectul ei este mult ameliorat de blocarea directă a mecanismelor efectoare imune; această inhibare se datorește acțiunilor considerate tradițional drept „antiinflamatoare", pe care le au atît chimioterapia imunosupresivă, cît și radioterapia. Momentul inflamator are o importanță crucială în procesele prin care o reacție imună lezează țesuturile, de aceea acțiunea antiinflamatoare a imunosupresoarelor poate fi considerată în bună parte o acțiune imunodepresivă.

În concluzie, în clinica imunopatiilor, medicația imunosupresivă:

a) nu va suprima reacțiile imune, ci le va atenua doar, dozele admisibile fiind mici;

b) indicația terapiei imunosupresive presupune existența unui mecanism imun (autoimun) de lezare tisulară; procesele autoimune inofensive nu necesită tratament, cu atît mai mult cu cît actuala medicație imunosupresivă are numeroase efecte toxice secundare, chiar în doze mici;

c) eficiența tratamentului se judecă, deocamdată, pe baza unor criterii clinice, simptomatice. Sînt necesare teste imunologice sigure prin care să poată fi apreciate exact doza, durata tratamentului și vindecarea. În lipsa lor nu avem certitudinea că ameliorarea clinică din bolile autoagresive se datorește efectului imunosupresiv în sine sau unor acțiuni asociate (în primul rînd antiinflamatoare). Dozele administrate sînt regle-

Scanned with OKEN Scanner

mentate în prezent pe baza acțiunilor secundare toxice; testele hematologice au primul loc în conducerea tratamentului;

d) momentul administrării nu ține seama de desfășurarea procesului imun, deoarece bolnavul se prezintă prea tîrziu pentru a surprinde faza de maximă sensibilitate la imunosupresoare: faza de inducție a procesului imun. În schimb, numeroasele efecte toxice secundare fac ca la alegerea momentului cînd să se înceapă terapia imunosupresivă să se țină seama de gravitatea bolii și de ineficiența altor mijloace terapeutice, mai puțin nocive.

INDICAȚIILE TERAPIEI IMUNOSUPRESIVE ÎN BOLI ÎN CARE ESTE IMPLICAT UN MECANISM AUTOIMUN

Teoretic, o terapie imunosupresivă specifică (de care nu dispunem actualmente) e indicată în toate bolile în care printr-un mecanism patogenic imun se provoacă sau se întrețin leziuni tisulare. Acțiunea imunosupresivă presupune în primul rînd împiedicarea reacției antigen-anticorp, antigen-limfocit sensibilizat și — secundar — blocarea mecanismelor efectoare, în care procesul inflamator are un rol important.

Practic, rolul patogen exclusiv al procesului imun nu este dovedit cert pentru nici o boală așa-zis autoimună (cu excepția anemiilor hemolitice autoimune), iar principalele mijloace imunosupresive (corticoterapia, antimitoticele etc.), în dozele uzual folosite în clinică, acționează în primul rînd antiinflamator, deci asupra mecanismelor efectoare. Cu mijloacele actuale de investigare nu se poate stabili măsura în care procesul imun propriu-zis contribuie la patogenia bolilor autoagresive.

Indicațiile unei terapii se stabilesc și aci, în primul rînd, prin tatonare și observarea clinică directă a rezultatelor tratamentului în anumite boli. De exemplu, s-au observat rezultate bune ale chimioterapiei imunosupresive în boli al căror mecanism patogen e complet necunoscut (de exemplu, terapia psoriazisului cu metotrexat) (30; 89).

Există însă o *bază experimentală* a utilizării imunosupresoarelor în terapeutică. Bolile autoimune ale șoarecilor, de exemplu anemia șoarecilor *NZB*, sînt atenuate de chimioterapia imunosupresivă (2, 106 bis).

Pe de altă parte, fiecare mijloc terapeutic imunosupresiv are efecte și indicații independente de acțiunea asupra reacțiilor imune (de exemplu, efectul antitumoral al antimitoticelor, efectul substitutiv, mezenchimostatic, psihotonic, diuretic etc. al glucocorticoizilor, scăderea hipertensiunii portale prin splenectomie și drenarea canalului limfatic, atenuarea leucozelor prin radioterapie etc.). Aceste indicații secundare depășesc subiectul nostru.

Terapia cu scop imunosupresiv se recomandă actualmente (vezi *Partea a treia, capitolul 1*):

a) În boli în care mecanismul patogen autoimun este aproape cert:
— dintre colagenoze: lupusul eritematos diseminat
— dintre bolile reumatismale: poliartrita reumatoidă

— dintre bolile sîngelui
- anemia autoimună hemolitică
- purpura trombocitopenică idiopatică
- neutropenia și pancitopenia autoimună
- purpura trombocitopenică trombotică

— dintre bolile renale cronice
- glomerulonefroza idiopatică
- unele glomerulonefrite cronice (glomerulonefrita membranoasă, sindromul Good-pasture)

— dintre bolile digestive
- colita ulceroasă
- hepatita lupoidă (hepatita cronică agresivă

— dintre bolile endocrine
- tiroidita Hashimoto
- boala Addison prin atrofie idiopatică
- au indicații principale de terapie patogenică imunosupresivă. Practic, tratamentul substitutiv este mai eficace și lipsit de riscuri

b) În boli a căror natură autoimună e probabilă, dar nedovedită:
— sindromul postcomisurotomie
— sindromul postinfarct miocardic
— gastrita cronică atrofică, ciroza biliară primitivă, hepatita cronică
— anemia pernicioasă (indicație terapeutică teoretică, deoarece substituția cu B_{12} are o eficacitate incontestabilă)
— periaterita nodoasă, sclerodermia, dermatomiozita
— boala Graves-Basedow cu sindrom exoftalmic sever (20; 111; 42)
— unele aspermatogeneze
— miastenia gravă, sindromul Sjögren, encefalopatia demielinizantă

c) Boli în care se bănuiește intervenția unui proces autoimun, pe lîngă alte mecanisme patogenice. Reacțiile autoimune ar determina caracterul cronic al bolilor:
— reumatismul poliarticular acut, purpura vasculară Henoch-Schönlein
— bronșita cronică, astmul bronșic
— sindromul Reiter

d) Boli cu etio-patogenie necunoscută, în care terapia imunosupresivă s-a dovedit eficace:
— psoriazisul, sarcoidoza.

În funcție de autori, toate aceste boli așa-zis autoimune pot fi clasificate în raport cu țesutul sau organul afectat, cu leziunile și anticorpii (vezi tabelul VI) sau pe grupe frecvent asociate (de exemplu, grupul tiroiditei Hashimoto: boala Addison idiopatică, sindromul Schmidt, anemia megaloblastică biermeriană, boala Graves-Basedow, miastenia gravă; grupul lupusului eritematos: sindromul Sjögren, dermatomiozita, sclerodermia, poliartrita reumatoidă; sindroame autoimune asociate cu infecții: colita ulceroasă, sindromul Reiter, reumatismul poliarticular acut etc.).

Unele boli autoimune sînt corectate de tratamente deosebit de eficiente, care nu acționează patogenic, dar sînt mult mai puțin nocive decît terapia imunosupresivă și o exclud complet (de exemplu, terapia substitutivă a anemiei megaloblastice biermeriene cu vitamină B_{12}).

Scanned with OKEN Scanner

În această categorie intră și boli, cum ar fi bronșita cronică, în care se bănuiesc componente autoimune în mecanismul de întreținere a bolii, însă tratamentul clasic e mult mai eficace decît imunosupresia nespecifică și cu potențial nociv de care dispunem actualmente.

În alte boli autoimune, mijloacele imunosupresive intervin mai ales prin acțiuni care nu afectează procesul imun: de exemplu, corticoterapia de substituție în boala Addison prin atrofie autoimună a corticosuprarenalelor, corticoterapia în doze mici antiinflamatoare din bolile reumatismale, hepatice, colagenoze etc., radioterapia antiinflamatoare din poliartrita reumatoidă, splenectomia în hepatita cronică stabilizată cu hipertensiune portală.

În general, dozele mari, imunosupresive, de corticoizi și medicația imunosupresivă citotoxică se recomandă în acele forme clinice ale bolilor autoagresive care au *evoluție rapidă* sau *pun viața în pericol*. Aceste mijloace se utilizează după ce altele s-au dovedit ineficace. Corticoterapia în doze mari remite de obicei simptomatologia; există însă forme corticorezistente, corticodependente prin prelungirea tratamentului, sau cu contraindicații pentru corticoterapie din cauza unor boli anterioare sau a unor leziuni secundare tratamentului. Aceste cazuri reprezintă indicația majoră a imunosupresiei cu substanțe antimitotice. Experiența de pînă acum arată că succesul citotoxicelor administrate cronic e cu atît mai mare cu cît se aplică mai precoce: de exemplu, în stadiile inițiale ale lupusului eritematos diseminat, ale dermatomiozitei, ale poliartritei cronice evolutive, mai ales în formele supraacute care apar la copii. Cazuri de lupus eritematos cu evoluție rapidă, fatale în cîțiva ani, sînt actualmente stăpînite de citostaticele imunosupresive. Aceste cazuri necesitau corticoterapie de durată, în doze mari, ducînd la grave tulburări de dezvoltare, acum absente.

În stadiile tardive, cu leziuni ireversibile viscerale sau ale aparatului locomotor, terapia imunosupresivă nu are efecte limitate și în general nu trebuie indicată decît dacă sîntem forțați de împrejurări.

În concluzie, indicarea terapiei imunosupresive, inclusiv a medicamentelor antimitotice, a depășit stadiul experimental; utilizarea ei presupune însă o justă apreciere a formei clinice a bolii autoagresive și a alternativelor terapeutice pe care le avem la dispoziție.

MODUL DE ADMINISTRARE

Mijloacele imunosupresive sînt identice cu cele utilizate în transplantele de organe. Experiența acumulată în transplante a determinat extinderea lor în clinica bolilor autoimune. Se utilizează:

1. corticoterapia;
2. antineoplazicele;
3. splenectomia;
4. timectomia;
5. radioterapia;
6. drenarea canalului toracic

(pentru detalii farmacologice teoretice vezi *Partea a doua*).

Scanned with OKEN Scanner

În clinică, primul tratament cu corticoizi (48) și ACTH a fost aplicat de Hench și colab., în 1949, în poliartrita reumatoidă, boală cu mecanism patogenic autoimun, actualmente aproape cert dovedit. Dozele utilizate atunci, enorme față de cele actuale, au efecte imunosupresive sigure și expun la numeroase efecte secundare. Rezultatele favorabile au fost spectaculoase, impunînd corticoterapia în clinică, deși mecanismul ameliorării era necunoscut.

Cei douăzeci de ani de corticoterapie eficace justifică larga răspîndire a acestui tratament în numeroase boli (vezi tabelul XIV). Pe de altă parte, rolul imunosupresiv al corticoterapiei, atît asupra producerii anticorpilor și limfocitelor sensibilizate, cît și asupra componentei inflamatoare a reacțiilor efectoare imune este tot mai bine studiat (vezi *Partea a doua, capitolul 2*).

Modul de administrare a corticoizilor în bolile autoimune se bazează, nu atît pe experiența obținută în tratamentul respingerii grefelor (ca în cazul altor mijloace imunosupresive), cît pe experiența clinică directă a utilizării glucocorticoizilor în numeroase boli, încă înainte de a fi cunoscut natura imunologică a acestor afecțiuni. Nu-i de mirare că datele furnizate de cazurile de poliartrită reumatoidă, prima afecțiune care a beneficiat de corticoterapie, au o pondere deosebită în strategia aplicării corticoizilor în bolile autoagresive.

În bolile cu componentă patogenică autoimună, corticoterapia nu se instituie automat, ci numai după epuizarea altor mijloace terapeutice sau dacă o impune gravitatea bolii. Terapia cu antineoplazice se inițiază doar cînd corticoterapia nu dă rezultate sau e contraindicată (91).

Principiile și responsabilitățile corticoterapiei au fost prezentate anterior *(Partea a doua, capitolul 2)*.

Dintre derivații glucocorticoizi sintetici (vezi tabelul XII), cel mai folosit e prednisonul. Celelalte produse, chiar de sînt mai puternice, devin din această cauză mai greu de manipulat și de fracționat. Rezultatele terapiei cu diverși derivați sintetici „cortizonici" nu sînt superioare celor obținute cu prednison (103).

Utilizarea ACTH-ului impune, în cazul unei terapii de durată, produsul sintetic Synachten^{R} (tetracosactin, peptid cu 24 de aminoacizi). Terapia cu Synachten are cîteva avantaje (vezi în *Partea a doua,* efectele endocrine ale corticoterapiei): poate fi întreruptă oricînd și brusc; nu dă efecte secundare digestive, ci doar o hipertensiune blîndă, reversibilă; permite o dezvoltare somatică normală a copiilor. În schimb necesită injecții subcutanate zilnice (nu este eficace peroral), terapia e mai scumpă și nu poate fi utilizat cînd sînt necesare doze enorme de glucocorticoizi, imunosupresoare, ci numai dacă e nevoie de doze farmacofiziologice. (De aceea nu se recomandă în terapia respingerii grefelor, dar este util în bolile autoimune.)

A. Administrarea dozelor mari un timp îndelungat (60—100 mg prednison sau mai mult) are actualmente indicații restrînse, deși la om steroizii au numai în aceste cantități un evident efect imunosupresor.

Scanned with OKEN Scanner

Efectele secundare, uneori dramatice, nu pot fi evitate, de aceea se recomandă numai în cazuri de forță majoră, în lupusul eritematos diseminat cu leziuni renale cu evoluție rapidă, în nefroze rebele la tratament, în purpura trombocitopenică trombotică, poliartrita reumatoidă severă care nu răspunde la celelalte medicamente, boala Graves-Basedow cu exoftalmie malignă. Aceleași doze și cu aceleași precauții se folosesc în terapia respingerii acute a grefei (vezi *Partea a doua, capitolul 4*).

B. Dozele relativ mari (peste 10 mg prednison pe zi), administrate timp îndelungat (peste 6—8 săptămîni), sînt eficace în foarte multe boli cu componentă autoimună și în boli alergice: lupusul eritematos diseminat, poliartrita reumatoidă, dermatomiozite, sclerodermie, anemia hemolitică dobîndită, purpura trombocitopenică idiopatică, colita ulceroasă. hepatita lupoidă, sarcoidoză, boli alergice (astm bronșic, febra fînului, edem angioneurotic, rinită alergică, dermatoze etc.).

Actualmente, astfel de doze se dau pe perioade scurte, de atac, în formele severe ale acestor boli; dozele de întreținere sînt însă mai mici, deoarece altfel problema hipercorticismului o înlocuiește pe aceea a bolii de bază, cu atît mai mult cu cît în aceste doze corticoizii nu au efect imunosupresiv propriu-zis asupra producției de limfocite sensibilizate și de anticorpi, decelabil la om, iar leziunile își continuă evoluția chiar după dispariția simptomatologiei clinice (102).

Variante de administrare încearcă să evite hipercorticismul și blocarea axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal al bolnavului. Remarcăm că există și autori (103) care nu observă avantaje prin aplicarea acestor variante:

a) dozele mari pe termen scurt determină remisiuni doar la 20% din bolnavi (în cazul poliartritei evolutive, 103);

b) terapia intermitentă: o săptămînă de tratament, o săptămînă pauză, sau o doză dublă la două zile;

c) administrarea întregii doze într-o singură priză, zilnic, e eficace doar la bolnavii care nu au mai primit anterior corticoizi (103).

C. Actualmente se preferă doze mici administrate îndelungat, aproape fiziologice, de circa 6 mg prednison pe zi, în prize de 2 mg la 8 ore. (Dozele echivalente ale altor corticoizi sînt de circa 30 mg cortizon, 25 mg hidrocortizon, 4 mg triamcinolon, 4 mg metilprednison, 0,75 mg dexametazon, 0,60 mg betametazon.) Ameliorarea clinică se observă și la aceste doze, care vor fi scăzute cu atenție (cu 0,5 mg prednison pe zi sau cu doze echivalente) dacă simptomatologia clinică o permite (103).

Desigur, aceste doze nu au efecte imunosupresive evidențiabile cu mijloacele actuale de investigație. Să nu uităm însă că, și în transplantele de organe, imunosupresia de durată se realizează cu doze de întreținere aproape homeopatice, administrate continuu; aceste doze minime au totuși un efect imunosupresiv, așa cum o dovedește apariția reacției de respingere imediat ce se oprește tratamentul (120).

Criteriile de urmărire a eficienței terapiei sînt, în primul rînd, clinice, și anume atenuarea simptomatologiei caracteristice fiecărei boli autoimune în parte. Dozarea 11-hidroxicorticoizilor în plasmă, a 17-hidro-

Scanned with OKEN Scanner

xisteroizilor urinari, constatarea existenței sau absenței ritmului nictemeral și a răspunsului suprarenalei la ACTH permit să se evite efectele secundare ale corticoterapiei, în primul rînd epuizarea rezervelor hipofizare de ACTH și o insuficiență corticosuprarenală secundară (vezi *Partea a doua, capitolul 2*). Interpretarea clinică a dozărilor hormonale este excelent prezentată în tratate recente (62).

În orice caz, deși toate aceste dozări au pus corticoterapia pe baze științifice (Savage, 1969), principalul criteriu de conducere a tratamentului este reprezentat de semnele clinice și de laborator (vezi *Partea a doua, capitolul 2*).

În bolile autoimune, efectele secundare ale terapiei cu steroizi sînt frecvente, fiind principala cauză a limitării ei. Complicațiile corticoterapiei, ca și raportul lor cu doza și durata tratamentului, au fost prezentate în *Partea a doua, capitolul 2*. Remarcăm aici apariția unor efecte secundare paradoxale: de exemplu, pseudoreumatismul cortizonic, simptome de lupus eritematos diseminat, vasculită necrotică imitînd periarterita nodoasă (103); acestea impun mărirea dozei, ceea ce accentuează simptomatologia și declanșează un cerc vicios.

În caz de eșec al corticoterapiei sau de contraindicații (vezi *Partea a doua, capitolul 2*) se recurge la medicația antineoplazică, ale cărei efecte toxice sînt însă și mai mari. Terapia simultană cu antineoplazice și corticoizi scade reciproc dozele și permite un tratament cu pericol mai mic.

2. ANTINEOPLAZICELE

În 1960, Dameshek și Schwarz (25) administrează pentru prima dată un antimitotic (6-mercaptopurină) în tratamentul unei boli autoimune (lupusul eritematos). Calne (1960) introduce în clinică azatioprina, actualmente cel mai utilizat imunosupresor (după prednison). Ulterior au fost prescrise diverse imunosupresoare, cu indicațiile amintite anterior. Mecanismul de acțiune și farmacologia acestor substanțe au fost prezentate în *Partea a doua, capitolul 1*.

Dozele de atac folosite variază mult după diverși autori (vezi tabelul VIII):

— azatioprină = 2,5—3 mg/kilocorp/24 de ore, deși s-au utilizat și doze de 5 mg/kilocorp/24 de ore, peroral sau intravenos;

— ciclofosfamidă = 2,0 — maximum 5,0 mg/kilocorp/24 de ore, oral sau intravenos;

— metotrexat = 2,5—5,0 mg, doza totală pe 24 de ore, *per os*, 3—4 zile pe săptămînă;

— clorambucil = 0,2 mg/kilocorp/24 de ore, *per os*;

— 6-mercaptopurină = circa 60 mg/m²/24 de ore, *per os*;

— fluorouracil = circa 15 mg/kilocorp/24 de ore;

— actinomicină *C* = 15 µg/kilocorp/24 de ore, intravenos;

— citozin-arabinoză = 50—100 mg/m²/24 de ore, intravenos;

— vincristină = 2 mg/m² pe săptămînă, intravenos;

— vinblastină = 0,1—0,3 mg/kilocorp, pe săptămînă, intravenos;

Scanned with OKEN Scanner

— *L*-asparaginază = 1 000—10 000 u./kilocorp, experimental la animale.

Administrarea asociată. În general nu s-au asociat decît antineoplazice şi corticoizi. Scăderea dozelor necesare de prednison reprezintă un scop şi totodată un criteriu de eficienţă a terapiei. Asocierea cu adrenocorticotropul sintetic pare să asigure excelente efecte imunosupresive în tratamentul de durată (91).

Alternarea azatioprinei cu metotrexatul a fost indicată de unii autori (73); în principiu, alternarea azatioprinei cu ciclofosfamida nu e necesară decît în caz de efecte toxice. În terapia hemoblastozelor e cunoscută asocierea sau alternarea a variate citostatice (de exemplu, în leucemia limfoidă acută) pentru a preveni instalarea rezistenţei la tratament şi a evita efectele secundare toxice, prin scăderea dozelor.

În terapia imunosupresivă a bolilor autoimune, acest principiu a fost aplicat numai referitor la asocierea unui antineoplazic cu prednisonul sau cu alt mijloc imunosupresiv (splenectomie, iradiere).

Dozele de întreţinere necesare într-un tratament de durată se stabilesc pe baza unor criterii, între care primul loc îl joacă tabloul clinic şi apariţia efectelor toxice secundare. Testele imunologice au deocamdată un rol minor.

Remarcăm ca un fapt deosebit de important că, la aceeaşi toxicitate generală, administrările discontinue de antimitotice sînt mai puţin imunosupresive decît administrările continue (Schneider, citat de 2).

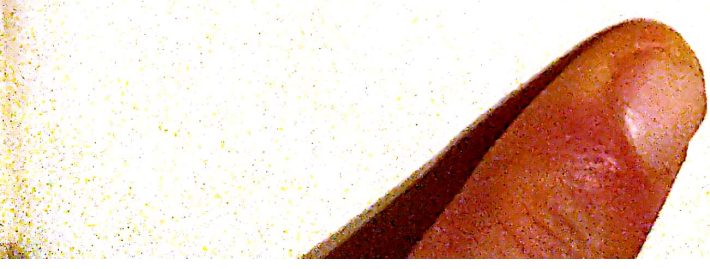
Normalizarea numărului de trombocite într-o purpură trombopenică imună, dispariţia proteinuriei într-o glomerulonefrită, a febrei şi poliserozitei într-un lupus eritematos, a durerilor articulare în poliartrita cronică evolutivă şi morbus Still etc. indică trecerea la doze de întreţinere, care reprezintă circa o jumătate pînă la un sfert din doza de atac.

Efectele toxice ale antineoplazicelor (vezi *Partea a doua, capitolul 1*), în primul rînd asupra măduvei osoase hematogene, reprezintă al doilea criteriu de bază pentru conducerea tratamentului, fixarea dozelor şi a duratei de administrare. Studii ample, atent executate de Kölle (1969), arată pentru azatioprină (56) că:

a) Dozele înalte de azatioprină, de 3,0 mg/kilocorp, nu trebuie depăşite şi nici menţinute peste 8 săptămîni. Terapia de întreţinere se efectuează numai cu doze sub 2,9 mg/kilocorp, iar după 6 luni, posibil sub 2,5 mg azatioprină/kilocorp. În funcţie de sensibilitatea individuală la medicament, adesea exagerată, dozele pot fi scăzute şi mai mult. Stabilirea acestor doze şi etape este cea mai indicată, cu toate că nu există un paralelism strîns între doză, durata terapiei şi lezarea măduvei osoase hematogene.

b) Azatioprina nu trebuie asociată cu antireumatice care lezează măduva hematogenă (fenilbutazonă, aminofenazonă).

c) Controlul hematologic se impune de două ori pe săptămînă în cursul dozelor mari şi o dată pe săptămînă în cursul dozelor de întreţinere. În general, semnele care apar în sîngele periferic sînt discrete şi tardive faţă de cele evidenţiate de puncţia medulară, însă suficiente pentru a o înlocui.



Scanned with OKEN Scanner

1. Semnele de alarmă constau în modificări periferice ale seriei roşii: anizocitoză marcată, cu macro- şi megalocite, creştere a volumului eritrocitar mediu peste 95 μ^3 şi a cantităţii de hemoglobină medie eritrocitară peste 31,5—32 $\gamma\gamma$. Aceste modificări periferice corespund unei reacţii megaloblastice medulare, cu (71) sau fără (56) hiperplazie medulară, fără anemie tipică megaloblastică, reacţie datorită unei tulburări de maturaţie a eritropoezei de tipul „oprire a diviziunii" (56).

La periferie, semnele de alarmă apar precoce; ele nu impun întreruperea terapiei, ci scăderea dozelor (71) sau menţinerea lor sub un control hematologic mai frecvent (56).

2. Scăderea granulocitelor sub 2 000/mm^3 impune întreruperea tratamentului (71) sau reducerea dozei (56) (ultimul autor întrerupe tratamentul la 1 500 leucocite/mm^3). Tratamentul se reia pe baza puncţiei medulare. Există tendinţe spontane de refacere hematopoetică în această fază.

Scăderea granulocitelor periferice (încă de la 3 000—4 000 granulocite/mm^3) e însoţită de tulburări medulare, cu scăderea raportului leucoeritrocitar. La 2 000 leucocite/mm^3 în sîngele periferic, în măduvă apare a doua fază mielotoxică: se tulbură maturarea granulopoezei, cu înmulţirea mieloblaştilor.

3. Dacă se continuă tratamentul, ceea ce constituie o gravă eroare, apare o agranulocitoză periferică, cu leziuni medulare de gradul al treilea: panmielopatia toxică, afectînd mai ales granulopoeza şi eritropoeza, mai puţin trombopoeza (această panmielopatie e toxică, nu alergic-medicamentoasă).

Cît despre metotrexat, el nu poate fi administrat continuu peste 4 săptămîni. În caz de boli hepatice, renale sau ale vezicii urinare (locul de eliminare), metotrexatul e contraindicat. Efectele toxice ale metotrexatului pot fi corectate prin administrarea acidului folic.

Testele imunologice actuale nu pot servi drept criteriu de conducere a tratamentului imunosupresiv. După cum am amintit, fenomene imunologice, cum ar fi factorul reumatoid sau fenomenul LE, rămîn adesea pozitive, deşi clinic s-a produs deja o remisiune de durată.

Durata tratamentului ţine seamă de tabloul clinic şi de efectele secundare ale antineoplazicelor. În general, este pripită întreruperea tratamentului înainte de 2—3 luni, dacă nu sîntem forţaţi de efectele toxice, abia în acest timp putîndu-se aprecia succesul terapiei (25). Pe de altă parte, am menţionat deja avantajele tratamentului continuu faţă de cel discontinuu. Întreruperea tratamentului poate fi încercată la completa remisiune clinică şi umorală, uneori şi imunologică, a bolii. În majoritatea cazurilor e necesar un tratament de lungă durată, adesea peste un an, ceea ce ridică probleme complexe de individualizare.

Rezultatul terapiei cu antineoplazice în bolile autoimune

Nu există încă o analiză critică, bazată pe criterii unitare, a experienţelor clinice acumulate în terapia imunosupresivă a bolilor autoagresive. De altfel, aceasta e greu de realizat, deoarece cazurile, modali-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XIX.

Rezultatul tratamentului cu droguri imunosupresive în unele boli autoimune

Boala tratată	Total cazuri	Remisiuni totale sau parţiale	Fără remisiuni	Autori
Poliartrită reumatoidă	486	342 (70,4%)	144 (29,6%)	9;18;25;28;29;35;37;43;46;51;53;54;56;61;63;66;67;71;75;78;81;86;94,104
Lupus eritematos diseminat	130	92 (70,8%)	38 (29,2%)	6;9;16;23;25;33;41;45;54;60;69;71;72;85;95;97;98
Anemii hemolitice autoimune	75	45	30	10;25;49;76;85;88;118
Trombocitopenie idiopatică	61	43	18	4;5;13;85;105
Glomerulonefrite şi glomerulonefroze	373	204 (54,7%)	169 (45,3%)	1;22;32;39;41;45;55;58;59;68;69;70;77;83;93;99;100;112;113;114;115;116;121;122;123
Colită ulceroasă	66	49	17	8;14;34;50;96;107;119
Hepatită cronică activă	205	158 (77,2%)	47 (22,8%)	3;21;38;40;44;65;79;80;87

tatea terapeutică, aprecierea remisiunii (totală, parţială, clinică, biochimică, imunologică) diferă de la autor la autor. Adesea doza sau durata tratamentului (sub două luni) e insuficientă pentru a aprecia efectele.

Prezentăm în tabelul XIX rezultatele terapiei imunosupresive cu antineoplazice, după datele mai cunoscute, pînă în 1970, în cîteva boli autoagresive în care aceste droguri sînt prescrise frecvent.

Prezentarea evidenţiază eficienţa antineoplazicelor, însă nu ţine seama de particularităţile tratamentului aplicat de fiecare autor, nici de stadiul bolii în momentul terapiei şi nu apreciază leziunile anatomopatologice şi nici persistenţa remisiunii după întreruperea tratamentului.

Se impune studiul unui material cazuistic bogat, tratat după principii unitare, alături de un grup martor supus terapiei tradiţionale. Asemenea studii ar putea infirma rezultatele de mai sus. Astfel, în sindromul nefrotic, Abramowicz şi colab. (1970) nu observă avantaje ale terapiei cu azatioprină la copiii corticorezistenţi, în timp ce Barrat şi colab. (1970, citat de 100) arată că ciclofosfamida reduce semnificativ

Scanned with OKEN Scanner

incidența recidivelor. Rezultatele celor două grupe de autori ar sugera dezavantajul terapiei cu azatioprină față de ciclofosfamidă în sindromul nefrotic al copilului. În realitate, grupele „martor" tratate cu *placebo* sînt diferite la cei doi autori: în primul caz li se continuă administrarea de prednison, în al doilea caz, corticoterapia „ineficace" este întreruptă. Un studiu corelativ al rezultatelor arată că sînt identice, și dovedește că terapia cu antineoplazice nu prezintă avantaje față de corticoterapie în sindromul nefrotic al copilului (Siegel și colab., 1971).

Terapia imunosupresivă cu antineoplazice a depășit stadiul experimental; succesele ei au impus-o în clinică, însă e necesară o apreciere corectă a momentului în care e indicată instalarea ei și a alternativelor posibile. Tratamentul cu antimitotice ameliorează: 50% din cazurile cu purpură trombopenică idiopatică (15% vindecări după oprirea tratamentului), 50% din anemiile hemolitice autoimune (20% vindecări definitive), 50% din lupusul eritematos diseminat, mai ales cu leziuni recente renale, 70% din poliartritele reumatoide, 60% din sindroamele nefrotice recente, 30% din glomerulonefritele proliferative.

Contraindicațiile terapiei antineoplazice sînt impuse de efectele secundare nedorite:

a) leucopenie sub 2 000 leucocite/mm^3;

b) infecții virale (herpes zoster), septicemii, infecții bacteriene rezistente la antibiotice;

c) boli renale și hepatice în cazul terapiei cu metotrexat;

d) graviditatea: efectele teratogene ale antineoplazicelor sînt certe, mai ales în primele luni de sarcină. De aceea, la femei în perioada fertilă trebuie asociate cu progestative de sinteză cu efect anticoncepțional. Pe de altă parte, după unii autori, progestativele de sinteză (de exemplu, medroxiprogesteronul) ar avea și efecte imunosupresive (vezi *Partea a doua, capitolul 1*);

e) boli cu mecanism patogen autoimun care răspund la tratamentele tradiționale sau la un tratament substitutiv (în cazul unor anemii pernicioase, al tiroiditei, insuficienței suprarenale prin atrofie autoimună etc.).

Tratamentul ambulatoriu de durată. Terapia cu azatioprină sau alte antimitotice în doze mari, ca și stabilirea dozei de întreținere tolerate îndelung, trebuie să aibă loc în timpul spitalizării (56), perioadă în cursul căreia pot apărea semnele unor eventuale efecte secundare.

Dacă în primele săptămîni nu se produc efecte toxice care să impună întreruperea tratamentului, acesta poate fi continuat ambulatoriu, cu obligația controlului hematologic săptămînal și a examenului clinic săptămînal, pentru a evita complicațiile. Medicii de teren trebuie să țină legătura cu clinica unde a fost tratat inițial bolnavul.

Imediat ce apar semne clinice de succes terapeutic se poate scădea doza (de exemplu, la 50—100 mg azatioprină pe zi), cu analize hematologice de control la intervale lungi (14—28 de zile), pericolul altor complicații fiind practic depășit. În acest moment se trece la tratamentul ambulatoriu (91). Unii autori subliniază efectele mutagene, teratogene și

Scanned with OKEN Scanner

chiar cancerigene (la animale) ale drogurilor imunosupresive. La om, efectul cancerigen nu e dovedit (92; 117).

Reamintim însă că formele uşoare ale bolilor autoimune (de exemplu, ale poliartritei reumatoide) sînt remise bine cu medicaţia clasică. Imunosupresoarele sînt recomandate în caz de eşec al altor mijloace de tratament şi în cazuri grave. În alte imunopatii, cum ar fi tiroiditele şi unele forme de anemie pernicioasă, ne limităm la terapia de substituţie.

3. SPLENECTOMIA

Rolul splinei în procesele imunitare şi efectele imunosupresive ale splenectomiei, destul de greu de separat de alte efecte simultane ale splenectomiei, au fost expuse în *Partea a doua*.

Dintre bolile cu mecanism patogen autoimun sau parţial autoimun, splenectomia şi-a dovedit deja utilitatea în anemii hemolitice autoimune cu anticorpi „la cald", fiind mai puţin eficace în tipul de anemie cu anticorpi „la rece": purpura trombocitopenică idiopatică (dacă nevoia de corticoizi persistă peste 6 luni sau apare corticorezistenţa).

În hepatita cronică, splenectomia e indicată de unii autori tot pe baza rolului ei imunosupresiv, al existenţei unor procese autoimune în întreţinerea hepatitei cronice şi al existenţei „hipersplenismului imunologic" (Fodor şi colab., 1953, vezi 36). Stabilirea valorii splenectomiei în terapia hepatitei cronice necesită observaţii mai numeroase şi pe o perioadă de timp mai lung. Totuşi, unii autori (36) recomandă splenectomia în:

— hepatite cronice splenomegalice cu hipersplenism;

— hepatite cronice cu modificări evidente imunoserice (hiperimunoglobulinemie, factori serici specifici antificat), cu semne de activitate moderată (deci în afara puseului de hepatocitoliză) şi în absenţa semnelor clinice, morfologice şi laparoscopice de hipertensiune portală.

În toate aceste cazuri se recomandă, cel puţin pre- şi postoperator, administrarea corticoizilor. În caz de eşec al terapiei steroidale asociate splenectomiei se recurge la imunosupresoare de tipul antineoplazicelor.

Să nu uităm că, aşa cum rezultatele terapiei cortizonice şi antineoplazice nu se datoresc numai efectului lor imunosupresiv, ci şi efectului antiinflamator, mezenchimostatic etc., tot aşa la eficienţa splenectomiei contribuie (predominant) rolul ei de depozit şi distrugere a elementelor figurate sanguine, de reglare a circulaţiei şi a metabolismelor.

4. RADIOTERAPIA

Radioterapia este un mijloc imunosupresiv actual şi eficace ca adjuvant al unei terapii imunosupresive complexe (vezi *Partea a doua, capitolul 3)*.

În clinică a fost aplicată înainte de a se cunoaşte natura autoimună a bolilor. Efectul favorabil era explicat prin acţiunea asupra infiltraţiei limfocitare.

Scanned with OKEN Scanner

Actualmente, radioterapia, sub forma iradierii locale, e indicată în bolile autoimune localizate, în care reprezintă un substitutiv util exciziei chirurgicale (McKay, Burnett, 1963), chiar la doze locale mici.

Iradierea totală în bolile cu răspunsuri autoimune generalizate sau sistemice e deocamdată hazardată, datorită riscului de efecte toxice și variabilității răspunsurilor.

Izotopii radioactivi sînt folosiți cu succes în tratamentul hipertiroidiei (42) și în aplicații locale articulare în poliartrita reumatoidă (37).

Nu mai revenim asupra tehnicii, surselor și metodelor de radioterapie (vezi *Partea a doua, capitolul 3*). Dintre rezultatele obținute remarcăm:

1. Eficiența administrării I^{131} în tratamentul bolii Basedow și al hipertiroidiilor în general. Efectul său se explică prin scoaterea din funcție a parenchimului hiperfuncțional tiroidian, cu scăderea consecutivă a producției de tiroxină și triiodotironină, dar și a stimulului pentru producerea LATS-ului (7), considerat actualmente autoanticorp față de o fracțiune microzomială tiroidiană (vezi *Partea a treia, capitolul 3*).

Se pare deci că tratamentul cu iod radioactiv este nu numai fiziopatologic, ci și patogenic. Remarcăm însă că există și rezerve asupra acestui punct de vedere, iar titrul LATS crește tranzitoriu după radioiodoterapie (57).

2. Tiroidita Hashimoto beneficiază de iradierea localizată în doze totale de circa 1 500 r în 35 de zile. Durerea dispare complet, iar induracția mai persistă circa 6 săptămîni (Hazel și colab., 1968) (vezi *Partea a doua, capitolul 3*).

3. Miastenia gravă beneficiază de timectomie, dar și de iradierea timusului sau a unor grupe musculare afectate (faciale, oculare, faringiene, ale extremităților). Se utilizează doze de 1 200 pînă la 2 500 r, în 15—28 de zile, cu surse de 1—2,7 milicurie. Santagada (1962) citează ameliorarea a 15 cazuri din 19. Schwab ameliorează jumătate din bolnavi, iar Hazel și colab. (1964) șapte din zece cazuri (la trei bolnavi a fost necesară timectomia). Hazel utilizează cu succes radioterapia și într-un caz cu sindrom Sjögren (1964) (vezi *Partea a doua, capitolul 3*).

4. Într-un sindrom hemolitic autoimun, în care existau autoanticorpi nespecifici și s-a efectuat o transfuzie de sînge incompatibil cu anticorpi din grupa Keel (47), s-a utilizat iradierea totală corporală cu 40 r în 5 zile, asociind corticoizi, azatioprină și exsanguinotransfuzie. S-a obținut o ameliorare spectaculoasă. Iradierea cu această doză a afectat celulele limfo-plasmocitare producătoare de anticorpi, din măduva osoasă și din circulație, fără să altereze prea mult restul seriei albe și roșii (47).

După cum am menționat, riscurile iradierii totale a organismului sînt deocamdată mai mari decît beneficiile.

5. În boli reumatismale cu componentă autoimună (de exemplu, în poliartrita reumatoidă), iradierea locală a articulațiilor este de mult intrată în practica medicală. Dozele utilizate sînt mici, antiinflamatoare, iar efectele lor imunosupresive, discutabile.

Scanned with OKEN Scanner

Unii autori citează succese administrînd local, intraarticular, izotopi radioactivi în poliartrita reumatoidă. Influența lor asupra proceselor imune locale nu a fost încă studiată.

În concluzie, radioterapia este un adjuvant terapeutic util în multe boli autoimune. În formele localizate, organospecifice, poate înlocui metodele chirurgicale, devenind principalul mijloc de tratament. Nu s-a precizat cît revine imunosupresiei în succesele terapeutice realizate.

5. SERUL ȘI GLOBULINA ANTILIMFOCITARĂ

Deși proprietățile imunosupresive ale serului antilimfocitar au fost evidențiate încă din 1963 de Woodruff și colab., iar rezultatele experimentale sînt excelente (vezi *Partea întîi, capitolul 4*) și aplicarea serului antilimfocitar sau a globulinei antilimfocitare în clinica transplantelor de organe umane încurajatoare (vezi *Partea a treia, capitolul 4*), există date extrem de sărace privind efectul acestui tratament în bolile autoimune (vezi 106 bis). De altfel, chiar în transplantele de organe la om, rezultatele obținute cu serul și globulina antilimfocitară nu sînt atît de evidente ca în experimentul pe animale (Traeger și colab., 1968) (vezi *Partea a treia,* capitolul *Transplante).* Dozele folosite în clinică sînt mai mici, avînd în vedere pericolul efectelor secundare (Brendel, 1971): febră și reacții anafilactice, dureri la locul injecției, uneori trombocitemie (15). În orice caz, în terapia transplantelor de organe, după cum vom menționa *(Partea a treia, capitolul 4),* serul sau globulina antilimfocitară se asociază aproape regulat altor mijloace imunosupresive, deoarece permit scăderea dozelor (mai ales a cantității de prednison), fără să apară reacții de respingere, ceea ce micșorează riscul complicațiilor prin terapia imunosupresivă și în primul rînd al complicațiilor infecțioase.

În clinica bolilor autoimune, serul antilimfocitar a fost administrat în sindroame renale în care nici corticoizii și nici asocierea azatioprinei n-au dat rezultate, în lupusul eritematos (Nosa și colab., Brendel), în dermatomiozită și scleroza multiplă (106 bis). Serul antilimfocitar a fost administrat în asociere cu corticoizi și azatioprină, ducînd la o remisiune promptă în două din cele trei cazuri publicate (82): unul cu sindrom Goodpasture și două cu nefropatie lupică severă. Rezultatele arată că ar fi cazul să se continue folosirea serului antilimfocitar (mai ales a celui produs la capre), atît în sindroamele renale severe, cît și în anemia hemolitică autoimună și miastenia gravă (studii preliminare nepublicate ale lui Pirofsky și colab., 1969).

Cazurile tratate de Pirofsky și colab. cu globulină antilimfocitară sînt prea puține și neînsoțite de martori pentru a se generaliza concluziile lor. Se impun totuși anumite observații, experiența urmînd să le confirme sau să le infirme.

a) În clinică, globulinele antilimfocitare au fost administrate în sindroame renale severe care nu au răspuns la alte metode imunosupresive și nici la terapia tradițională.

b) Răspunsul inițial a apărut la 2 săptămîni de la începerea tratamentului cu ser antilimfocitar. Remisiunea a fost anunțată de descrește-

rea proteinuriei, a azotemiei, a hematuriei și creșterea *clearance*-ului de creatinină. Ulterior, ameliorarea progresivă e însoțită de creșterea albuminelor serice și a complementului (C'_3), descreșterea globulinelor serice, mai ales a α_2-globulinelor, descreșterea colesterolemiei. Simultan se obțin ameliorări hematologice. Se normalizează viteza de sedimentare a hematiilor (crescută), se corectează anemia; valorile leucocitelor și trombocitelor revin la normal.

c) Cazul cu sindrom Goodpasture arată ameliorări pulmonare înainte de remisiunea renală.

d) Efectul imunologic al globulinei antilimfocitare și al globulinei antitimocitare e variabil, fenomenele imune celulare sînt mai puternic influențate decît cele umorale. Astfel:

— formarea izoanticorpilor umorali nu e modificată;

— răspunsul anticorpic primar nu e inhibat (măsurat prin titrul anticorpilor după imunizare cu brucele sau *Salmonella typhy*);

— răspunsul anticorpic secundar e nemodificat (semnalat de titrul anticorpilor anti-*A* sau anti-*B*);

— valorile imunoglobulinelor au variații neînsemnate, necaracteristice (Ig*G*, Ig*A*, Ig*M*);

— autoanticorpii umorali variază cantitativ, dar nu după un model bine definit, iar reacțiile antiglobulinice, slab pozitive, și celulele LE dispar și apoi reapar;

— hipersensibilitatea tardivă, evidențiată de testele cutanate, nu e modificată.

În schimb, reactivitatea celulară e net modificată: sensibilizarea cu dinitroclorbenzen e inhibată; grefele cutanate homologe de la donatori neînrudiți, compatibili *ABO*, sînt respinse cu întîrziere (la 25 de zile după globulina antilimfocitară, la 43 de zile după globulina antitimocitară).

e) Folosind ser de capră în locul serului de cal, autorii evită reacțiile secundare după globulina antilimfocitară și globulina antitimocitară. Nu apar limfopenii sau trombopenii, și nici reacții alergice locale sau generale, și nu apar anticorpi umorali împotriva proteinelor de capră.

Aceste avantaje ale serului de capră față de cel de cal, folosit curent, se explică prin faptul că:

1. o parte semnificativă a populației e sensibilizată la proteinele serului de cal;

2. anticorpii de capră sînt imunoglobuline *G*, pe cînd la cal mulți sînt imunoglobuline *M*; or, fracțiunea imunoglobulinei *G* e mai eficientă decît cea *M*;

3. imunogenitatea proteinelor din serul de cal este înaltă, apar reacții alergice aproape obligatoriu la bolnavii supuși terapiei cu globuline antilimfocitare de surse ecvine în cursul transplantelor de organe. Serul de capră, mai puțin studiat, nu a dat reacții alergice la cinci subiecți testați (82) și nici dureri la locul injecției (fenomen frecvent citat la globulinele antilimfocitare de sursă ecvină).

În concluzie, datele actuale, încă extrem de sărace, îndreptățesc continuarea încercărilor de a utiliza serul sau globulinele antilimfo-

Scanned with OKEN Scanner

citare și antitimocitare, mai ales preparate pe capră, în boli de autoagresiune care nu răspund la terapia tradițională. Serul antilimfocitar pare să dea rezultate chiar acolo unde tratamentul mixt cu corticoizi și azatioprină e insuficient. Nu există date privind efectul serului antilimfocitar sau al globulinelor antilimfocitare administrate singure, neasociate altor imunosupresoare. Terapia bolilor autoimune cu ser sau globuline antilimfocitare nu a depășit faza experimentală.

6. TIMECTOMIA

Rolul timusului în procesele imune și efectul imunosupresiv al timectomiei au fost expuse în *Partea a doua.*

Remarcăm aplicațiile relativ restrînse ale timectomiei în clinică, în împrejurări în care nu există un timom, datorită involuției sale o dată cu vîrsta. Dintre bolile autoimune, principala beneficiară a acestui tratament este miastenia gravă, și anume cazurile severe, la femei sub 40 de ani, fără timom, dar cu timusul hiperplaziat. La bărbații și femeile în vîrstă rezultatele sînt incerte, iar la bolnavii cu timom, prognosticul nu este ameliorat de înlăturarea acestuia (vezi *Partea a treia, capitolul 6*).

7. DRENAREA CANALULUI LIMFATIC

Această metodă imunosupresivă nu a fost folosită încă în bolile autoimune, avînd o eficiență limitată chiar în transplante (vezi *Partea întîi, capitolul 7, Partea a treia, capitolul 4*).

Desigur, drenarea canalului limfatic pentru corectarea hipertensiunii portale din ciroza hepatică poate interfera eventual cu procesele autoagresive din această boală, însă nu a fost încă studiată din acest punct de vedere.

BIBLIOGRAFIE

1. *Abramowicz M., Barnett H., Edelman C. Jr., Grefer I., Kobayashi O., Arneil G., Barron B., Gordillo P. G., Hallman M., Tiddens H.* — Controlled trial of azathioprine in children with nephrotic syndrome. *Lancet*, I, 1970, 7 654; 959—961.
2. *Amiel J. L.* — Immunodépression chimique. *Méd. Hyg.*, 1969, 27, 894: 1 397.
3. *Arter W. J., Perkins K. W., Blackburn C. R. B.* — Experience with the use of 6-mercaptopurine and „imuran" in the treatment of progressive hepatitis (active chronic hepatitis). *Austr. Ann. Med.*, 1966, 15: 222—226.
4. *Asai K., Chikada C.* — The effect of 6-MP on the patient with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Acta haemat. jap.*, 1963, 26, 345.
5. *Baldini M.* — Idiopathic thrombocytopenic purpura. *New Engl. J. Med.*, 1966, 274: 1 360—1 367.
6. *Barnikol H., Vorlaender K.* — Voraussetzungen und erste Ergebnisse zur therapeutischen Anwendung des Azathioprins beim chronisch-progredienten Gelenkrheumatismus und bei sogenannte Kollagenkrankheiten. *Med. Welt. (Stuttg.)*, 1967, 18 N. F., 160.
7. *Bauer F., Catz B.* — Radioactive iodine therapy for progressive malignant exophthalmos. *Acta Endocrinol.*, 51, 15, 1966.

8. *Bean R. H. D.* — Treatment of ulcerative colitis with antimetabolites. *Brit. Med. J.*, 1966, 1: 1 081—1 084.
9. *Beickert A., Geidel H.* — Erfahrungen mit 6-Merkaptopurin und Methotrexat bei primär chronischer Polyarthritis und anderen Kollagenosen. *Dtsch. Gesundh.-Wes.*, 1968, *23*, 15: 685.
10. *Bläker F.* — Cytostatische Behandlung nicht maligner Erkrankungen. *Mschr. Kinderheilk.*, 1967, 115, 497.
11. *Boiron M.* — Résultats des immunodépresseurs dans les affections sanguines. *Méd. Hyg.*, 1969, *27*, 894: 1 398.
12. *Bordet P.* — Processus immunitaires et maladies autoimmunes. *Méd. Hyg.* (Genève), 1969, *27*, 894: 1 396.
13. *Bouroncle B. A., Doan C. A.* — Treatment of refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *J. A. M. A.*, 1969, 207: 2 049—2 052.
14. *Bowen G. E., Irons G. V. Jr., Rhodes J. B., Kirsmer J.* — Early experiences with azathioprine in ulcerative colitis. A note of caution. *J. A. M. A.*, 1966, 195: 460—464.
15. *Brendel W.* — Heterologes Antilymphozytenglobulin. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1971, 96, 1 851.
16. *Brocteur J., Moens Chr.* — Treatment of rheumatoid arthritis with immunosuppressive drugs. *Acta rheum. scand.*, 1965, 11, 221.
17. *Brooke B. N., Hoffmann D., Swarbrick E.* — Azathioprine for Crohn's disease. *Lancet*, II, 1969, 7 621: 612—614.
18. *Bruckner I., Stroescu V., Gheorghiu M., Bârnaş M.* — Indicaţii şi rezultate ale tratamentului cu imunosupresive în poliartrita reumatoidă. *St. Cercet. Med. Int.*, 1969, *10*, 2: 131—136.
19. *Burnet F. M.* — Concepts of autoimmune diseases and their implications for therapy. *Perspect. Biol. Med.*, 1967, 10: 141—151.
20. *Burrow G. N., Mitchell M. S., Howard R. O., Morrow L. B.* — Immunosuppressive therapy for the eye changes of Grave's disease. *J. Clin. Endocr.*, 1970, 31, 307.
21. *Calne R. Y., Evans D. B., Herbertson B. M., Joysey V., McMillan R., Maginn R. R., Millard P. R., Pena J. R., Salaman J. R., White H. J. O., Withycombe J. F. R., Yoffa D. E.* — Survival after renal transplantation in man: an interim report on 54 consecutive transplants. *Br. med. J.*, 1968, II, 404.
22. *Chasis H., Goldring W., Baldwin D. S.* — Effect of febrile plasma, typhoid vaccination and nitrogen mustard on renal manifestations of human glomerulonephritis. *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.*, 1949, 71: 565—567.
23. *Cheng Siang S., Wong K., Chew A., Jayaratman F. J.* — Cyclophosphamide in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Brit. Med. J.*, 1966, 1, 333.
24. *Coe R. O., Bull F. E.* — Cirrhosis associated with methotrexate treatment of psoriasis, *J. A. M. A.*, 1968, 206: 1 515—1 520.
25. *Corely C. C., Lessmer H. E., Larsen W. E.* — Azathioprine therapy of autoimmune diseases, *Amer. J. Med.*, 1966, 41, 404.
26. *Dameshek W. Schwarz R.* — Treatment of certain autoimmune diseases with antimetabolites. *Trans. Ass. Amer. Physns.* 1960, *72*, 113.
27. *David D. S., Grieco M. H., Cushman P.* — Adrenal glucocorticoids after twenty years. A review of their clinically relevant consequences. *J. chron. Dis.*, 1970, 22, 10: 637—711.
28. *Deicher R., Fricke R.* — Untersuchungen zur Therapie der rheumatoiden Arthritis mit Zytostatika. *Z. Rheumaforsch.*, 1969, 28, 20.
29. *De Mis D. J., Brown C. S., Crosby W. H.* — Thioguanine in the treatment of certain autoimmune, immunologic and related diseases. *Amer. J. Med.*, 1964, 37, 195.
30. *Donald C. J. Mc., Bertino J. R.* — Parenteral methotrexate in psoriasis. *Arch. Derm.*, 1969, 100: 655—668.
31. *Doniach D., Walker J.* — A modified concept of autoimmune hepatitis. *Lancet*, I, 1969, 813.

Scanned with OKEN Scanner

104. *Stoeber E., Kölle G., Graner H.* — Immunosuppressive Therapie der kindlichen rheumatoiden Arthritis und des Morbus Still. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.*, 1968, 74.
105. *Sussman L. N.* — Azathioprine in refractory idiopathic thrombocytopenic purpura. *J. A. M. A.*, 1967, 202: 259—263.
106. *Swanson M. A., Schwartz R. S.* — Immunosuppressive therapy. The relation between clinical response and immunological competence. *New Engl. J. Med.*, 1967, 277: 163—170.
106 bis. *Taylor M. E.* — The clinical application of antilymphocyte globulin. *Med. clin. North Amer.*, 1972, 56, 419.
107. *Theodor E., Gilom E., Waks U.* — Treatment of ulcerative colitis with azathioprine. *Brit. Med. J.*, 1968, 4: 741—743.
108. *Vries (de) M. G.* — Processus immunitaires et greffes d'organes. *Méd. Hyg. (Genève)*, 1969, 27, 894: 1 396.
109. *Warnatz H.* — Das Phänomen der Lymphocytentransformation in der Pathogenese und Diagnostik der Autoimmunopathien. *Z. ges. exp. Med.*, 1969, 149, 64.
110. *Watson D. W., Johnson A. G.* — The clinical use of immunosuppression *Med. Clin. N. Am.*, 1969, *53*, 6: 1 225.
111. *Werner S. C.* — Prednisone in emergency treatment of malignant exophthalmos. *Lancet*, 1966, 1, 1 004.
112. *West C. D., Holland H. H., McConville J. M., McAdams A. J.* — Immunosuppressive therapy in persistent hypocomplementemic glomerulonephritis and in lupus nephritis. *J. Pediat.*, 1965, 67: 1 113—1 122.
113. *West C. D., Hong R., Holland H. H.* — Effect of cyclophosphamide on lipoid nephrosis in the human and on aminonucleoside nephrosis in the rat. *J. Pediat.*, 1966, 68: 516—524.
114. *West C., Hary R., Holland H.* — Effect of cyclophosphamide on lipoid nephrosis in the human and on aminonucleoside nephrosis in the rat. *J. Pediat.*, 1967, 68, 516.
115. *White R. H. R., Cameron J. S., Trounce J. R.* — Immunosuppressive therapy in steroid-resistant proliferative glomerulonephritis accompanied by the nephrotic syndrome. *Brit. Med. J.*, 1966, 2: 853—860.
116. *White R. H. R.* — Cytotoxic drug therapy in steroid-resistant glomerulonephritis. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1967, 60: 1 164—1 168.
117. *Wohlenberg* — Zur Langzeitbehandlung mit Immunosuppressiva. *Dtsch. Med. Wschr.*, 1970, 95, 1: 40.
118. *Worledge S., Brain M. C., Cooper A. C., Hobbs J. R., Dacie J. V.* — Immunosuppressive drugs in the treatment of autoimmune hemolytic anemia. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1968, 61: 1 312—1 315.
119. *Winkelman E. I., Brown C. H.* — Nitrogen mustard in the treatment of chronic ulcerative colitis and regional enteritis. *Cleveland Clin. Quart.*, 1965, 32, 165—174.
120. *Woodruff M. F. A., Nolan B., Robson J. S., McDonald M. K.* — Experience with renal transplantation in man. *Lancet*, 1969, 1, 6.
121. *Zosin C., Mănescu N., Schwarzkopf A.* — Tratamentul sindromului nefrotic cu ajutorul medicației imunosupresive. *Med. int. (București)*, 1967, *19*, 9: 1 067.
122. *Zosin C.* — Actualități în nefrologie. *Med. int. (Buc.)*, 1968, *20*, 12, 1 421.
123. *Zosin C., Mănescu N., Iacob G., Schwarzkopf A., Sabo I., Gluhovschi G.* — Terapia imunosupresivă în nefropatii. *Stud. cercet. Med. Int.*, 1969, *10*, 2, 137.
124. *Zuckner J., Udden J., Ramsey R. H., Gantmer G. E. Jr., Ahern A. M., Dorner R. W.* — Evaluation of intra-articular thiothepa in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 1966, 25: 178—185.

Scanned with OKEN Scanner

4

TERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ ÎN TRANSPLANTAREA ORGANELOR

Principala problemă care limitează transplantarea organelor este respingerea grefei prin răspunsul imun al gazdei. Rezolvarea ei implică trei obiective:

a) găsirea unor donatori care să fie histocompatibili cu receptorul;

b) folosirea metodelor de inducere a unei stări de non-reactivitate a gazdei împotriva substanţelor antigenice prezente în organul donat;

c) susţinerea organismului în perioada de respingere a grefei.

Primul obiectiv se bazează pe faptul că organul transplantat supravieţuieşte indefinit dacă donatorul şi receptorul sînt genetic identici, cum este cazul gemenilor uniovulari sau al raselor pure de animale. Cercetări moderne permit detectarea indivizilor histocompatibili identici sau semiidentici, chiar dacă nu sînt înrudiţi (16; 17).

Realizarea celui de-al doilea obiectiv presupune cunoaşterea mecanismului imun care determină respingerea grefei şi suprimarea lui cu metode specifice (paralizia imunologică prin administrare de antigen sau *enhancement* indus de anticorpi) sau cu metode imunosupresive nespecifice. Acestea din urmă sînt singurele utilizabile actualmente în clinică, şi anume: citostaticele (mai ales azatioprina), corticoterapia (de obicei prednisonul, prednisolonul), radioterapia, serul sau globulina antilimfocitară, drenarea canalului limfatic, splenectomia, timectomia (vezi *Partea a doua*). Marele dezavantaj al imunosupresiei nespecifice constă în creşterea vulnerabilităţii bolnavului la infecţii bacteriene, virale şi fungice. Se discută tot mai mult potenţialul oncogen al imunosupresoarelor.

Perfecţionarea metodelor de susţinere a funcţiilor organismului în perioada de respingere a grefei explică succesele transplantelor renale şi dificultăţile întîmpinate de transplantarea altor organe (cord, ficat, plămîn etc.). O persoană anterior sănătoasă poate trăi aproape zece zile după pierderea bruscă a ambilor rinichi, durată mult mai mare decît

Scanned with OKEN Scanner

pentru supraviețuirea fără ficat, fără a mai discuta despre inimă. Mai mult, cu ajutorul hemodializei se suplinește perfect și de durată activitatea unui rinichi care nu și-a reluat funcția după transplantare sau e blocat în cursul reacției de respingere. Hemodializa permite înlocuirea rinichiului incompatibil cu un nou transplant.

Cu alte cuvinte, barierele în transplantarea cordului, ficatului, pancreasului, plămînului nu sînt numai imunologice (87). Nu există date care să sugereze că barierele imunologice sînt mai mari pentru transplantele cardiace decît pentru cele renale, și se pare că transplantul hepatic e favorizat din acest punct de vedere (Calne și colab., 1969) (citat de 86; 87).

Insuccesul relativ al transplantării altor organe, față de rinichi, se explică în esență prin: *a*) lipsa unor metode perfecționate de suplinire a funcției organelor supuse respingerii imunologice; *b*) neselecționarea donatorilor și imposibilitatea de a folosi organe de la persoane înrudite vii.

MECANISMUL RESPINGERII GREFEI

Nu putem prezenta mijloacele imunosupresive utilizate pentru a induce toleranța față de grefă fără a schematiza cunoștințele actuale asupra mecanismului prin care gazda respinge transplantul.

Reacția grefei împotriva gazdei, întîlnită în cazul particular al transplantării organelor hematopoetice, a fost prezentată în *Partea întîi, capitolul 2.*

Evoluția concepției despre respingerea grefei a determinat introducerea altor mijloace imunosupresive, de la experimentarea anticorpilor izoantiserului antileucemic (Gorer, 1942) la metodele limfopenizante utilizate actualmente (55).

Atragem încă o dată atenția că metodele imunosupresive actuale sînt nespecifice, brutale. Efectele favorabile obținute pentru a combate respingerea acută a grefelor (ca și în multe boli autoimune) nu trebuie să ne facă să credem că știm prin ce mecanism s-a produs efectul dorit. De exemplu, majoritatea metodelor folosite determină limfopenie. În mecanismul respingerii grefei intervin însă, pe lîngă factori celulari, și factori umorali care pot leza organul transplantat pe multiple căi (vezi mai jos).

Bazele imunologice ale respingerii grefei au fost stabilite de Gorer (1937, 1938). Gibson, Medawar (1942) observă respingerea mai rapidă a grefelor de piele transplantate a doua oară de la același donator uman și presupun intervenția unui proces imun. Gorer (1942) afirma că rolul principal îl joacă anticorpii serici și a experimentat transplantînd tumori și leucemii la șoarece. Dezvoltarea unei leucemii transplantabile la șoarece a putut fi inhibată de izoantiserul dirijat împotriva celulelor leucemice, de unde s-a emis ipoteza că grefele tisulare alogene provoacă un răspuns imun care include formarea anticorpilor; în unele circum-

Scanned with OKEN Scanner

stanțe, acești anticorpi umorali pot avea un efect distructiv asupra grefelor.

Date ulterioare pun pe primul plan imunitatea mediată prin celule sensibilizate (46). Limfocitele mici sînt celulele imunocompetente cu rol dominant, deși încă incomplet cunoscut, în respingerea mai multor tipuri de grefe (4). Obiecțiile aduse ipotezei respingerii prin factori umorali și argumentele în favoarea rolului limfocitelor sînt următoarele:

1. Anticorpii umorali au efecte diferite asupra diverselor tipuri de grefe. Dacă unele țesuturi (de exemplu, celulele leucemice și limfoide) sînt foarte vulnerabile la anticorpi umorali *in vivo* și *in vitro*, alte țesuturi tumorale transplantate, nu numai că nu sînt distruse rapid, ci chiar se dezvoltă și își prelungesc timpul de supraviețuire sub acțiunea anticorpilor, efect paradoxal observat de Kaliss (1957) (citat de Woodruff, 1969), și cunoscut sub numele de *immunological enhancement*. Acest fenomen poate fi utilizat experimental ca mijloc de imunosupresie specifică. De exemplu, imunizarea pasivă, cu izoanticorpi a șoarecelui purtînd grefe de piele alogene nu le distruge, ci uneori le prelungește supraviețuirea (Brent, Medawar, 1962) (citați de 4).

Rolul anticorpilor umorali în respingerea grefelor de piele nu e complet exclus; tratînd receptorii cu titruri înalte de antiser *H-2*, Stevens și colab. (1958) (citați de 4) au obținut o respingere accelerată.

2. Imunitatea de transplant, ca și sensibilitatea de contact, poate fi transferată la gazde neimune cu o suspensie de celule limfoide viabile (53). Transferul de limfocite mici provoacă respingerea grefei de către gazdă; cu cît este mai mică proporția limfocitelor din suspensie, cu atît se reduce incidența fenomenului de respingere (Gowans, 1962) (citat de 4).

În realitate, în reacțiile de respingere a grefelor intervin atît factori celulari (cu rol preponderent), cît și factori umorali, iar mecanismul respingerii nu e unitar, ci variază cu tipul grefei, organul și locul unde este transplantat, experiența imunologică anterioară a receptorului (inclusiv folosirea mijloacelor imunosupresive), modul de reactivitate imunologică a receptorului (4).

Modificările histologice care însoțesc reacția de respingere confirmă acest punct de vedere. În alogrefele cu țesuturi normale (rinichi, piele), reacția histologică notată la receptorii neimunizați în prealabil și care nu primesc medicamente imunosupresive constă într-o infiltrație limfocitară progresivă cu unele elemente din seria plasmocitară și histiocitară (aceasta este reacția de respingere de tipul I, identică aceleia descrise de Gorer, în 1956, în transplantul tumorilor solide la șoarece). Sub imunosupresoare moderate, reacția de respingere apare mai tîrziu, iar infiltrația celulară e moderată; în plus apare o necroză fibrinoidă a peretelui arteriolar cu agregarea trombocitelor în capilarele glomerulare. La grefele renale care se pierd abia după ani de funcționare (respingere cronică), pe membrana bazală a capilarelor glomerulare apar acumulări de imunoglobuline *M* și complement. Aspectele histologice arată deci modele diferite de respingere a grefei, incriminînd probabil un număr de mecanisme diferite.

Scanned with OKEN Scanner

În concluzie prezentăm (4) acțiunile ipotetice ale factorilor umorali și celulari în distrugerea grefei:

Factorii umorali (anticorpi a căror acțiune necesită de obicei activarea complementului, activare însă neobligatorie) (81) pot interveni:

1. citotoxic direct asupra celulelor grefate (de exemplu: *a*) grefele leucemiei șoarecelui sau cu celule limfoide; *b*) reacție de transfuzie la bolnavi, datorită anticorpilor antileucocitari);

2. lezînd vasele prin depunere de anticorpi și complement (de exemplu: *a*) respingerea imediată a grefei renale la bolnavi presensibilizați, avînd anticorpi citotoxici antidonator; *b*) necroza vaselor și agregarea trombocitelor în capilarele glomerulare, apărînd în respingerea renală întîrziată);

3. activînd macrofagele (de exemplu, „sindromul alogenic acut" al șoarecelui, provocat de respingerea intraperitoneală determinată de macrofage de la un donator sensibilizat).

Factorii celulari. În organul transplantat, în timpul reacției de respingere apar limfocite, plasmocite și macrofage.

Dependența și transferul reacției de respingere prin limfocite sensibilizate sînt cunoscute (53), însă mecanismul detaliat prin care determină limfocitele lezarea grefei nu a fost clarificat. Unele date arată că acest proces are două stadii: *a*) de „recunoaștere" a celulelor grefate drept străine și aderare a limfocitelor sensibilizate la celulele țintă; *b*) de eliberare a substanțelor distructive (mecanism efector).

Cît despre plasmocite, există dovezi certe că sintetizează anticorpi umorali și se poate presupune că această funcție explică prezența lor în timpul respingerii grefei.

După Hume (1969), în cazul transplantelor renale (în care experiența clinică este cea mai bogată) apar trei mecanisme de respingere:

1. respingerea acută, prin atacarea grefei de către limfocite purtînd anticorpi celulari. Răspunde de obicei la azatioprină și prednison și e atenuată de serul antilimfocitar și de mijloacele de depleție limfatică;

2. respingerea cronică, datorită anticorpilor umorali, cu atac al endoteliului vascular renal și al membranei bazale glomerulare (glomerulonefrită membranoasă). Imunosupresia actuală este ineficace; se impune testarea histocompatibilității donator-receptor înainte de operație;

3. respingerea hiperacută, datorită anticorpilor preformați, determină uneori în 10 minute necroza corticală a retransplantului sau a celui de-al treilea transplant. La primul transplant se manifestă doar la incompatibilități *ABO* sau ocazional. Imunosupresia este ineficace. Se impune căutarea anticorpilor receptorului antidonator înainte de transplantare.

PRINCIPII TEORETICE DE COMBATERE A RESPINGERII TRANSPLANTULUI

Imunoreactivitatea și imunotoleranța pot fi determinate de același antigen, fiecare mecanism depinzînd de doza antigenului. Conform concepției actuale, bazată pe studii experimentale, antigenele sînt ingerate

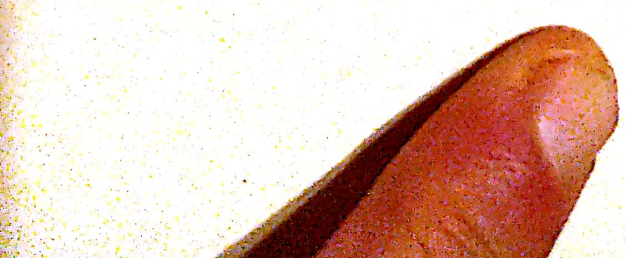
Scanned with OKEN Scanner

inițial de celule ale sistemului reticulo-histiocitar (macrofage) și/sau de procesele dendritice ale celulelor reticulare specializate din nodulii limfatici. În felul acesta se formează un „superantigen", adică o formă imunogenică de antigen care va stimula celulele limfoide din ganglionii limfatici, splină și plăcile Peyer pentru a produce anticorpi și reacții imune mediate celular (vezi *Partea întîi, capitolul 4*). Dacă un antigen solubil într-o cantitate foarte mare este administrat unui animal care nu a fost expus în prealabil acestei substanțe, partea din antigen scapă nefagocitat de sistemul reticulo-histiocitar și vine în contact direct cu limfocitele imunocompetente, ceea ce determină o stare de non-reactivitate specifică (imunotoleranță), denumită toleranță la doză înaltă. Mitchison a dovedit că și cu cantități mici de antigene se poate obține o stare de non-reactivitate parțială, numită toleranța la doză joasă (54) (vezi *Partea întîi, capitolele 2; 3; 6*).

Natura antigenelor transplantului a început să fie clarificată grație studiilor lui Dausset (14; 15; 16; 17), urmat de numeroși alți cercetători. Un transplant nu poate imuniza gazda decît dacă este vascularizat (3), ceea ce explică succesul transplantelor de cornee și cartilaj în afara oricăror metode imunosupresive. Dausset și colab. (14; 16; 17) au dovedit că histocompatibilitatea tisulară e determinată, în mare parte, de antigene leucocitare (*HL-A*). Sistemul *HL-A*, determinat genetic autosomal, cuprinde pînă în prezent 30-40 de antigene. Locusul autosomal cuprinde mai multe subunități, sublocusuri, mai bine cunoscute fiind două, care guvernează o serie de alele mutual exclusive, și anume: primul sublocus poate produce alternativ antigenele $HL\text{-}A_1$, $HL\text{-}A_2$, $HL\text{-}A_3$, $HL\text{-}A_9$, Da_{15}, Da_{17} (nomenclatura O.M.S., 1968); al doilea sublocus: antigenele Da_4, $HL\text{-}A_5$, $HL\text{-}A_7$, $HL\text{-}A_8$ și probabil Da_6, Da_9. Probabil că sînt produse și antigene încă necunoscute. Fiecare sublocus, cu genele corespunzătoare, formează o combinație genotipică sau haplotip, transmisă în bloc de la părinți la copii.

Studiile lui Dausset (16; 17) pe grefe de piele și de rinichi arată că majoritatea influențelor antigenice ale transplantului sînt determinate de antigenele corespunzătoare acestor două sublocusuri. Incompatibilitățile datorite altor sisteme cunoscute sau necunoscute sînt mai slabe și stăpînite prin metodele actuale de imunosupresie nespecifică (17). Aceste rezultate au o deosebită valoare în selecția donatorilor, deoarece astăzi există posibilitatea să se determine cele 11 antigene leucocitare mai importante (vezi mai jos). Nu se pot însă separa antigenele transplantului, deci nu se poate induce o imunotoleranță specifică prin administrare de antigen.

De aceea, actualele metode imunosupresive se adresează în primul rînd fondului de celule imunocompetente ale receptorului, sistemului limforeticular. Scăzînd numărul celulelor imunocompetente, se creează un surplus relativ de antigen favorabil instalării toleranței (Schwarz, 1969). Desigur, aceasta este numai o ipoteză pentru a explica eficiența imunosupresiei nespecifice în clinică.



Scanned with OKEN Scanner

PRINCIPIILE PRACTICE ALE TERAPIEI IMUNOSUPRESIVE NESPECIFICE ÎN TRANSPLANTAREA ORGANELOR

a) Obiectivul imunosupresiei constînd în a preveni sau a înlătura respingerea grefei, ea este inutilă în cazul transplantelor efectuate între gemeni univitelini (identici antigenic), al autotransplantelor și al transplantării țesuturilor nevascularizate (de exemplu, corneea, cartilajul). În celelalte cazuri, reacția de respingere depinde, atît la om, cît și la animalele de experiență, de compatibilitatea donator-receptor, unele antigene genetic determinate fiind mai puternice decît altele. În mod ideal, ar trebui să găsim un mijloc imunosupresiv care să permită supraviețuirea transplantului oricărui donator la orice receptor; în practică nu avem această posibilitate, de aceea se face selecția donatorilor (vezi mai jos) pe baza unor teste de identitate și incompatibilitate a antigenelor leucocitare cu receptorul. Dacă nu se fac aceste testări (de exemplu, o bună parte din transplantele cardiace), sîntem puși uneori în fața unor reacții de respingere foarte puternice, care nu pot fi stăpînite cu metodele de imunosupresie nespecifică actuale.

b) În prezent nu e posibilă depozitarea unor organe pe perioade lungi. De aceea, cînd se folosește un organ prelevat de la un cadavru, nu se începe terapia de imunosupresie decît scurt timp înainte de efectuarea transplantării.

c) Orice tip de donator s-ar utiliza, e de dorit ca doza inițială imunosupresivă să fie suficient de mare pentru a aboli o stare de imunitate preexistentă, deoarece orice bolnav poate să fi fost sensibilizat în trecut de unele din antigenele donatorului (de exemplu, prin transfuzie) sau se sensibilizează imediat după transplantare dacă doza inițială supresivă este prea mică.

d) Ar fi de dorit, în mod ideal, ca bolnavul să realizeze o toleranță specifică la transplantul său, dar să poată reacționa normal la alți stimuli antigenici: în particular, să reziste la infecții bacteriene, virotice, fungice și să-și păstreze starea de imunitate activă preexistentă. Practic, metodele actuale scad global și nespecific capacitatea de apărare a organismului; de aceea se asociază măsuri de prevenire a infecțiilor exogene (bolnav hrănit strict izolat) și o supraveghere atentă pentru a depista declanșarea unei infecții endogene (din tubul digestiv, aparatul respirator etc.). Uneori se efectuează profilaxia medicamentoasă (de exemplu, Evans și colab. (1969) au administrat hidrazidă la un bolnav cu tuberculoză stabilizată); nu se administrează însă antibiotice profilactic, dacă nu s-a declanșat infecția.

e) Se urmăresc foarte atent eventualele complicații neinfecțioase: hemoragii prin tulburări de coagulare, anemii prin deprimare a măduvei osoase hematogene, epuizare musculară, apariție a vreunui neoplasm etc.

f) Valoarea și metodica aplicării unui anumit procedeu imunosupresiv sînt date de următorii parametri:

1. gradul barierelor imunologice (în homotransplant), care pot fi depășite;

Scanned with OKEN Scanner

2. momentul începerii tratamentului în raport cu momentul transplantării;
3. dozele care abolesc o stare de imunizare preexistentă;
4. cînd şi în ce grad poate fi redus nivelul medicamentului imunosupresiv, fără a risca respingerea grefei;
5. care este riscul infecţiilor şi al altor complicaţii şi în ce grad poate fi redus prin:
— izolare temporară a bolnavului,
— imunizare activă sau pasivă,
— antibiotice şi alte mijloace.

MIJLOACELE IMUNOSUPRESIVE FOLOSITE ÎN TRANSPLANTĂRILE DE ORGANE

Actualmente, în transplantări sînt utilizate toate mijloacele imunosupresive cunoscute, de obicei în asociaţie, şi anume:

1. chimioterapia, cu { *a*) citostatice şi antineoplazice; *b*) corticoterapie
2. radioterapia totală, localizată sau extracorporală
3. serul antilimfocitar
4. drenarea canalului toracic
5. timectomia
6. splenectomia.

Progresele terapiei imunosupresive, extinderea aplicării ei în bolile autoimune, se datoresc rezultatelor şi experienţei acumulate în cursul transplantărilor de organe. Fiecare echipă chirurgicală foloseşte o schemă proprie de tratament, în care citostaticele şi corticoterapia, în asociaţie, se utilizează obligatoriu.

1. CHIMIOTERAPIA IMUNOSUPRESIVĂ (antineoplazicele şi corticoterapia)

La puţin timp după ce Schwartz şi colab. (1958) au evidenţiat efectele imunosupresive ale 6-mercaptopurinei, Calne şi colab. (1960, 1961, 1962) şi Zukoski (1965) reuşesc să întîrzie cu acest drog respingerea homogrefelor renale la cîine. În 1964, Starzl publică prima serie mai largă de succese în transplantarea rinichilor la oameni trataţi cu medicamente imunosupresive.

Actualmente, medicamentul cel mai răspîndit, prezent în toate schemele de terapie imunosupresivă, este *azatioprina*, derivat de 6-mercaptopurină, care acţionează în organism probabil generînd 6-mercaptopurină. A fost introdus în clinica transplantării de Calne şi se administrează în doze variind între 2 şi 5 mg/kilocorp/24 de ore, *per os* (uneori direct prin tub intragastric). *Actinomicina* D este adesea asociată pe perioade scurte în momentul respingerilor acute, în doze medii de 15 µg/kilocorp/24 de ore, intravenos, circa 5 zile. *Corticoterapia* (prednison, prednisolon *per os* şi hemisuccinat de hidrocortizon intravenos) se administrează obligatoriu,

Scanned with OKEN Scanner

împreună cu azatioprină ± actinomicină *D*, în respingerile acute ale grefei; în plus, majoritatea chirurgilor utilizează corticosteroizii profilactic, din momentul operației, trecînd treptat la doze minime, de întreținere. Dozele inițiale sînt foarte mari, imunosupresive (100—300 mg prednison pe zi, adică 3—4 mg/kilocorp).

Alte citostatice au fost utilizate ocazional de diverse echipe chirurgicale. Treptat, indicația lor s-a restrîns, toxicitatea fiind mai mare decît aceea a azatioprinei și fără să aibă o eficiență superioară. În plus, asocierea a două sau mai multe antineoplazice nu are un efect imunosupresiv superior și nici nu e mai bine tolerată decît adiminstrarea individuală.

Au fost folosite ocazional (vezi *Organ transplantation today*, 1969; di Mezza, 1968, *Cursul internațional de transplantare de organe*, Lyon, mai, 1971): 6-mercaptopurina (circa 60 mg/m²/24 de ore, *per os*), metotrexatul (circa 3—10 mg/m²/24 de ore, *per os* sau 30 mg/m², intramuscular, de două ori pe săptămînă), fluorouracilul (15 mg/kilocorp/24 de ore), clorambucilul (8—12 mg/zi, *per os*), ciclofosfamida (2—4 mg/kilocorp/24 de ore, *per os*), busulfanul (0,5—6 mg/24 de ore, *per os*), natulanul (100—200 mg/m², *per os*), citozin-arabinozida (50—100 mg/m²/24 de ore, intravenos), vincristina (2 mg/m²/săptămînă, intravenos), vinblastina (0,1—0,3 mg/kilocorp/săptămînă, intravenos), *L*-asparaginaza.

Ultimele produse au fost utilizate mai mult în experimente pe animale. Detalii asupra acțiunii lor sînt prezentate în *Partea a doua, capitolul 1*. Ne vom referi în continuare la medicamentele imunosupresive care s-au impus și sînt utilizate curent în clinica transplantelor de organe.

Chimioterapia (azatioprina și prednisolonul, cu sau fără actinomicină) asigură supraviețuirea homografelor umane renale* prelevate de la donatori vii, în 87% din cazuri în primii doi ani de viață (al șaptelea raport *Kidney transplant registry*), chiar cînd nu se face o selecție a donatorilor (cu excepția incompatibilității grupelor *ABO*). Introducerea pe scară largă a testării histocompatibilității pe baza grupelor leucocitare va prelungi supraviețuirea, împuținînd respingerile acute, rezistente la imunosupresie.

Majoritatea chirurgilor încep să dea imunosupresoarele preoperator. Woodruff consideră că nu e nevoie să administrăm azatioprină pînă în ziua transplantării sau chiar o zi după aceea.

Corticoterapia trebuie să preceadă cu 24 de ore operația (83). Alți autori (24) administrează sistematic prednison în doză inițială de 1 mg/kilocorp/24 de ore abia în a doua lună postoperator (dacă nu survine o reacție de respingere în acest interval).

Dacă începe respingerea, doza de azatioprină poate fi scăzută (după 83), în schimb dozele de steroizi date peroral (prednison) și intravenos (hemisuccinat de hidrocortizon) cresc la 1,5—2 mg/kilocorp/24 de ore (sau chiar mai mult). Se asociază actinomicină *C*, eventual iradieri locale

* Progresul transplantărilor renale, experiența bogată acumulată în acest domeniu, fac ca acest tip de grefe să constituie un model, un deschizător de drumuri pentru transplantarea altor organe și pentru cunoașterea și utilizarea imunosupresiei, atît în chirurgie, cît și în boli cu mecanism patogen autoimun (Hamburger, 1969).

Scanned with OKEN Scanner

(după Fries, trei iradieri locale de 150 r fiecare ar fi suficiente, nu există însă o schemă rigidă).

După cîteva săptămîni, doza de steroizi și azatioprină poate fi mult redusă. Experimental, pe cîini cu homotransplante renale funcționînd de un an sau mai mult, sub tratament cu azatioprină, suprimarea totală a medicamentului permite o supraviețuire de lungă durată. Aceasta nu se datorește unei toleranțe imunologice specifice, ci probabil unei forme de adaptare a grefei, definită de Woodruff (1959). La om, nimeni nu a avut curajul să suprime terapia imunosupresivă, însă dozele de întreținere au fost reduse uneori la proporții homeopatice.

Riscul complicațiilor în chimioterapia imunosupresivă este mare, unele sînt foarte serioase sau fatale (22).

Riscul infecției pare mai mic cu medicamente imunosupresive decît prin iradierea totală a corpului (83). De altfel, iradierea totală în doze subletale nu mai e utilizată (24).

Infecțiile sînt adesea asociate cu bacterii, virusuri, ciuperci și microorganisme. Considerînd numai transplantele renale, la care succesele sînt remarcabile, Evans (22) găsește 35 de infecții importante la 55 de operați sub tratament cu azatioprină și corticoizi, în 16 cazuri infecția contribuind la evoluția letală (în 12 din aceste cazuri, dozele imunosupresive fuseseră deosebit de mari, pentru a combate reacțiile de respingere a grefei). Tot în 1969, Woodruff prezintă o statistică în care 8 din cele 20 de decese, la 35 de bolnavi cu homogrefă renală, se datorau complicațiilor infecțioase.

Cele mai grave infecții sînt cele bacteriene și fungice. Virusurile nu constituie o problemă clinică majoră, deși la animale de laborator (cîini, șoareci, maimuțe) au fost citate viroze mortale (Woodruff, 1969).

Pericolul micozelor mai frecvente, cu *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Torula*, contraindică administrarea profilactică a antibioticelor și impune o profilaxie de rutină, orală, cu nistatin, amfotericină *B* (22).

Infecțiile bacteriene mai frecvent întîlnite cuprind germeni din grupul coliform, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, iar ocazional *Klebsiella pneumoniae*.

Combaterea complicațiilor bacteriene implică profilaxia infecției exogene prin izolarea bolnavului în perioada riscului maxim (eficiența acestor măsuri împinse la extrem a fost descrisă de Woodruff și colab. în 1968) și înlăturarea pericolului intern, reprezentat de organismele nepatogene care există în mod obișnuit în tractul digestiv și respirator. Tratamentul profilactic cu antibiotice e contraindicat, exceptînd administrarea locală la purtători de organisme patogene și terapia tuberculostatică la bolnavii cu antecedente personale tuberculoase. Cea mai eficientă protecție o asigură vigilența neîntreruptă și tratamentul prompt, specific, în caz de infectare. Trebuie atrasă atenția asupra infecțiilor „banale" (de exemplu, anginele), a căror nesesizare la timp poate avea efecte dezastruoase în numai cîteva zile. Invers, terapia promptă poate avea succes chiar în cazuri deosebit de grave (Woodruff, 1969, citează cazul unui bolnav care a revenit, la 14 luni după un transplant renal, cu

dureri toracice şi febră, atribuite osteoporozei şi unei pneumonii; în cîteva zile au apărut însă semnele unei meningite cu *Cryptococcus neoformans* izolat în lichidul cefalorahidian. Tratamentul specific cu amfotericină *B* a înlăturat infecţia, iar funcţionalitatea rinichiului grefat a revenit la normal).

Actualmente, externarea bolnavului care a primit grefe renale (29) sau cardiace (2) şi reluarea activităţii obişnuite nu sînt contraindicate. Pericolul infecţiilor nu e mai mare dacă condiţiile de acasă sînt adecvate, iar familia, medicul familiei, înţeleg să trimită imediat bolnavul la spital dacă apar infecţii, chiar minore.

În cazul particular al transplantelor renale, existenţa unei infecţii minore preoperatoare impune (29) înlăturarea ambilor rinichi. Desigur, nici organul transplantat nu trebuie să fie infectat. În caz de infecţii severe cu respingere se întrerupe medicaţia imunosupresivă, se înlătură alografa şi — după restabilirea bolnavului prin hemodializă — se face al doilea transplant (22). Aceste măsuri nu se pot aplica deocamdată în transplantarea altor organe.

Deşi infecţia e totdeauna potenţial periculoasă, ea contribuie uneori semnificativ la instalarea imunosupresiei, aducînd un real beneficiu. Există date sporadice, neprelucrate statistic, asupra acestui aspect. De exemplu, Woodruff (1969) prezintă un bolnav căruia i s-a grefat un rinichi care a funcţionat excelent timp de trei ani, avînd o infecţie persistentă cu *Ps. pyocynea* în tractul urinar. Tratat pentru sterilizare în trei ocazii, cu polimixină, de fiecare dată funcţia renală a scăzut brusc, dar temporar. Acest efect supărător a fost atribuit iniţial polimixinei, însă ulterior s-a extras o substanţă cu proprietăţi imunosupresive din unele tulpini de *Pseudomonas* (Stones şi colab., 1967) (citat de Woodruff, 1969), ceea ce a clarificat problema.

A doua complicaţie frecvent întîlnită în transplantarea organelor este epuizarea musculară *(muscular wasting)*, care apare atît după corticoterapie, cît mai ales după doze mari de azatioprină. Se atribuie interferării generale a sintezei proteice, dar poate contribui şi depleţia limfoidă (epuizarea musculară apare, experimental, după toate procedeele limfopenizante). Azatioprina este şi un toxic hepatic activ.

Trombocitopenia apare adesea, în grade moderate, după citotoxice, dar dispare de obicei prin suprimarea temporară a drogului (iradierea totală şi serul antilimfocitar pot provoca de asemenea trombocitopenie).

Neoplasmele apărute în cursul imunosupresiei prelungite au o frecvenţă mică, dar semnificativă (în seria lui Woodruff, 1969, şapte neoplasme din 1 700 de transplante renale, toate tratate cu prednison şi azatioprină, iar unele şi cu globulină antilimfocitară). Penn, Starzl şi colab. (1969), Woodruff (1969), Doak (1968) citează apariţia unor reticulosarcoame. Ar putea să intervină mai multe cauze:

1. agenţii imunosupresivi sînt mutageni;

2. oncogeneza virală poate fi potenţată experimental de diverşi agenţi imunosupresivi, inclusiv serul antilimfocitar (Allison, Law, 1968; etc.);

Scanned with OKEN Scanner

3. teoretic, imunosupresia favorizează creşterea tumorilor care posedă antigene specifice tumorale.

Trebuie să distingem tumorile care apar secundar imunosupresiei de cele transplantate o dată cu organul (prin depozite metastatice minime, invizibile, sau celule tumorale viabile în lumenul vaselor transplantului); ultimele trebuie prevenite selectînd atent donatorii şi grefa înainte de transplantare.

Efecte toxice. Din 89 de bolnavi cu transplant renal sub tratament cu imuran (azatioprină), observaţi de Hamburger (29), 26 au prezentat *leziuni hepatice,* dintre care 14 cu icter. Hepatita severă a dus la moarte în două cazuri.

Scăderea funcţiilor măduvei osoase hematogene este un alt efect secundar, frecvent întîlnit în cursul chimioterapiei imunosupresive.

Complicaţiile speciale *provocate de drogurile imunosupresive şi de corticoterapie* sînt enumerate în *Partea a doua, capitolele 1 şi 2.* Woodruff (1969) citează — ca frecvente şi inevitabile cît timp se vor administra prelungit doze mari, imunosupresoare, de prednison şi prednisolon — aspectul cushingoid, hipertensiunea arterială şi osteoporoza. Ocazional apar hemoragii digestive şi/sau perforaţii. Medicaţia antiacidă, obligatorie la toţi bolnavii, face ca frecvenţa ulceraţiilor digestive să fie foarte redusă (Woodruff, 1967).

2. RADIAŢIILE IONIZANTE

A. Iradierea organismului receptor, în totalitate, a constituit primul succes în combaterea incompatibilităţii imunologice a ţesuturilor transplantate (vezi *Partea a doua, capitolul 3*). Acţiunea imunosupresivă a roentgenterapiei, evidenţiată din 1915—1920 de Hektoen, a fost aplicată în chirurgia experimentală a transplantelor de Murphy (1926) şi Dempster şi colab. (1950), iar în clinica umană, în 1959, de Hamburger şi colab. (28) şi Merrill şi colab. (47). Datorită iradierii totale a receptorului înainte de transplantare s-au reuşit primele două transplantări renale între gemeni neidentici, ambii bolnavi fiind în viaţă în 1968, la nouă ani după operaţie (29). Ulterior, Hamburger a utilizat iradierea totală a receptorului în 30 de cazuri de transplant renal uman (din cele 103 efectuate de el între 1959 şi 1968). Eficacitatea acestui prim mijloc imunosupresiv e cu atît mai evidentă cu cît, înainte de 1959, toate încercările de transplantare a ţesuturi şi organe (inclusiv de rinichi uman) au eşuat prin respingere acută, iar promotorii transplantelor renale (Hamburger, Merril, Hume) conchideau că bariera homogrefelor pare de netrecut (32).

Actualmente, iradierea totală a organismului în doze subletale nu mai e utilizată în transplantare, datorită complicaţiilor grave pe care le generează, fiind înlocuită cu alte mijloace imunosupresive.

Singura ei utilizare o reprezintă transplantarea măduvei osoase hematogene la bolnavii cu leucemie limfoblastică acută. Mathé şi colab. (45) au raportat 17 grefări reuşite de măduvă din 24 de încercări, la 24 de

Scanned with OKEN Scanner

bolnavi în prealabil iradiaţi prin cobaltoterapie (Co^{60}). La cîtva timp după iradiere (2—7—11—32 de zile) se fac transfuziile de măduvă osoasă, bolnavii fiind izolaţi şi hrăniţi în încăperi speciale sterilizate şi injectîndu-li-se profilactic γ-globulină (nu antibiotice).

Utilizarea iradierii totale a organismului în transfuziile de măduvă are ca scop — pe lîngă efectul antimitotic, util la bolnavii leucemici — inducerea himerismului de iradiere, toleranţa specifică la ţesutul donator (vezi *Partea a doua, capitolul 3*). Acest fenomen, descris la alte specii (şobolani etc.) e foarte rar obţinut la oameni, la care apare de obicei un sindrom secundar constînd în reacţia grefei — care conţine celule imunocompetente proprii — împotriva gazdei (vezi *Partea întîi, capitolul 2*) şi în complicaţii septice şi hemoragice care duc rapid la moarte. Mathé şi colab. (45) susţin că şi la oameni survine o toleranţă specifică a receptorului faţă de ţesuturile donatorului prin grefă totală de măduvă osoasă, datorită producerii imunoglobulinelor în receptorul himeră exclusiv de către ţesutul grefat. Autorii recomandă în acest scop selecţia donatorilor. În orice caz, rezultatele lor nu sînt convingătoare. Din 17 transplante de măduvă osoasă totală declarate „reuşite", 14 bolnavi au decedat rapid prin sindromul secundar (constînd mai ales în reacţia grefei împotriva gazdei şi complicaţii infecţioase). La cei patru bolnavi la care sindromul secundar a putut fi controlat cu alte mijloace imunosupresive (corticoterapie în timpul transplantării, ametopterină şi/sau ciclofosfamidă în zilele următoare transfuziei şi transplant de măduvă de la donatori multipli), supravieţuirea maximă a fost de 20 de luni. Însăşi necesitatea de a utiliza donatori multipli exclude posibilitatea să se folosească transfuzii de măduvă la om ca mijloc imunosupresiv specific pentru a realiza o toleranţă specifică la toate ţesuturile altui organism (cu eventuala lor folosire pentru transplantarea rinichiului, cordului, ficatului etc.).

Deşi actualmente nu se foloseşte iradierea totală a organismului datorită complicaţiilor mortale la care expune, radioterapia şi-a dovedit eficacitatea ca mijloc imunosupresiv prin supravieţuirile de durată obţinute în transplantările renale tratate numai prin iradiere preoperatoare (28; Küss şi colab., 1962; Murray şi colab., 1962 etc.).

B. Radioterapia localizată a transplantului a luat locul iradierii totale. Se urmăreşte distrugerea limfocitelor, atît la nivelul arcului aferent, cît şi la nivelul arcului eferent al reacţiei imune.

Dozele utilizate în iradierea locală a rinichiului sau cordului transplantat sînt variabile: Barnard a utilizat, la primul transplant cardiac, $cobalt^{60}$, o sursă de 1 curie, doze de 100 rad în ziua a treia, 85 r în ziua a patra, 200 în zilele 5; 7; 9 (2). Fries utilizează 150 r în zilele 1; 3; 5; 6 postoperator, doza totală nedepăşind 900 r (24).

Actualmente, şi iradierea locală sistematică şi profilactică tinde să fie abandonată, deoarece la doze de 1 500 r s-au citat leziuni renale; în schimb e curent utilizată de unii autori în caz de respingere acută a grefei renale (trei iradieri locale a cîte 150 r, după Fries, 1968).

Experimental se preconizează iradierea sîngelui sau a limfei într-un sistem extracorporal şi injectarea unor substanţe radioactive, în căile

Scanned with OKEN Scanner

limfatice, pentru a distruge sistemul limfoid (vezi *Partea a doua, capitolul 3*).

Inițial s-a indicat o iradiere unică, care să preceadă cu 24 de ore transplantul. Actualmente, schemele de aplicare sînt variabile, în orice caz cît mai precoce în respingerea acută a grefei.

Imunitatea preexistentă e relativ puțin influențată de iradiere. Toleranța la grefă e durabilă (nouă ani în primul caz al lui Hamburger). Rezistența la infecții, foarte scăzută în perioada iradierii totale corporale, revine la normal permițînd o viață cotidiană obișnuită la o lună sau două după transplantare.

Principalele complicații după infecții (prevenite ca și în cazul imunosupresiei chimice) sînt hemoragiile prin trombopenie și defecte de coagulare. Mathé și colab. (45) combat aceste complicații cu acid epsilonaminocaproic și transfuzii repetate de trombocite.

C. Iradierea sîngelui sau a limfei într-un circuit extracorporal, ca și injecțiile intralimfatice cu izotopi radioactivi, sînt noi metode de radioterapie experimentală, neutilizate încă în clinica transplantelor de organe la om.

3. SERUL ȘI GLOBULINA ANTILIMFOCITARĂ

Proprietățile imunosupresoare ale serului antilimfocitar au fost puse în evidență de Woodruff și colab. (82), care obțin cu ajutorul lui supraviețuirea prelungită a homografei de piele la șoarece. În scurt timp, Starzl l-a introdus ca terapie curentă pentru a preveni respingerea transplantelor renale umane.

Se consideră că serul antilimfocitar suprimă preferențial imunitatea celulară față de cea umorală, dar nu printr-un efect limfopenizant (vezi *Partea a doua, capitolul 4*).

Într-un studiu experimental, Vries (79) susține că serul antilimfocitar acționează simultan asupra imunității celulare și umorale, în timp ce azatioprina (imuranul) intervine numai în formarea anticorpilor. În tratamentul homografelor renale, cardiace și intestinale la șobolani și cîini apar două tipuri de reacții de respingere: respingerea parenchimatoasă (glomerulară, musculară, epitelială), în producerea căreia microscopul electronic a arătat contribuția esențială a adeziunii marilor celule limfoide de peretele muscular, și respingerea vasculară (arterita necrozantă), datorită depozitării γ-globulinelor gazdei, evidențiate prin microfluorescență, pe peretele arterei afectate.

Respingerea vasculară (mediată umoral) e suprimată în proporție de 90% de azatioprină și incomplet de prednison și iradierea locală. Respingerea parenchimatoasă (mediată celular) nu e influențată de aceste mijloace imunosupresive, în schimb e puternic inhibată de serul antilimfocitar de șobolan, preparat pe iepuri. Serul antilimfocitar are un efect mai redus și asupra respingerii vasculare. Autorul conchide că asocierea azatioprinei (6 mg/kilocorp) cu serul antilimfocitar are efectul pro-

tector maxim asupra transplantelor renale experimentale: suprimă respingerea vasculară, reduce mult leziunile glomerulare și asigură o supraviețuire de 100 de zile la 71% din animale (79).

Posologia serului antilimfocitar e încă discutată. După Woodruff (85), administrarea experimentală la animale poate fi întîrziată pînă după efectuarea transplantului. În clinică, numeroși autori administrează serul antilimfocitar intramuscular în cele 10 zile care precedă grefarea (24; 75). Durata administrării nu a fost precizată. Experimental pare posibilă — asociind timectomia (Jrejerbhoy, 1965; Monaco și colab., 1966) (citați de Woodruff, 1967) — oprirea completă a tratamentului cu ser antilimfocitar fără a administra alte imunosupresoare. În clinică, echipa din Lyon (24; 75) prelungește indefinit terapia cu ser antilimfocitar, rărind injecțiile la 2, apoi la 3, apoi la 4 zile, în sfîrșit, o dată pe săptămînă din luna a șasea. Dozele variază, serurile nefiind la fel de puternice, iar metodele de testare *in vitro* nu corespund acțiunii imunosupresive *in vivo*.

Serul antilimfocitar nu a fost utilizat niciodată cu unica terapie imunosupresoare în transplantele umane, ci numai asociat chimioterapiei, ca tratament profilactic sau pentru a combate respingerea acută a grefei. Pentru a preveni respingerea renală a fost utilizată globulina antilimfocitară în asociere cu azatioprină și prednison, de către Starzl și colab. (70), Kashiwagi (34) în 50 de cazuri, de Traeger și colab. (74) în 18 cazuri, de Woodruff și colab. (87) în 6 cazuri etc.; în homotransplantele ortotopice hepatice, Starzl și colab. (70) au utilizat globulina antilimfocitară împreună cu azatioprină, obținînd în patru din șase cazuri supraviețuiri de 1—7 luni; în 18 transplante cardiace, Cooley și colab. (12) asociază corticoterapia cu azatioprină și globulină antilimfocitară; la fel Dubost și colab. (21), Butler și colab. (8) etc.

Rezultatele clinice ale administrării serului și globulinei antilimfocitare nu sînt atît de evidente ca acelea experimentale. De altfel, doza pe kilocorp e mult mai mică. Nu s-a putut preciza dacă timpul de supraviețuire crește cînd se asociază serul antilimfocitar la restul terapiei imunosupresive (deși Starzl și colab. (70) susțin aceasta), în schimb prin asociere s-au putut reduce doza de corticoizi și riscul complicațiilor infecțioase (Traeger, 74; Woodruff, 1969), fără a apărea reacții de respingere.

Complicațiile specifice clinice ale terapiei cu ser antilimfocitar sau derivați sînt frecvente, cu toată doza relativ redusă (vezi *Partea a doua*). Aproape toți bolnavii au prezentat dureri, uneori severe, la locul injecției (intramusculare sau subcutanate). Febra și reacțiile anafilactoide sînt comune. Trombocitemia apare la unii bolnavi, în timp ce la alții același ser antilimfocitar nu dă acest efect secundar. Încercarea de a absorbi activitatea antiplachetară a serului nu a dat rezultate (Woodruff, 85). Unul din bolnavii lui Woodruff (86) a murit de limfom malign, dar s-a constatat că acesta exista înainte de administrarea globulinei antilimfocitare.

Scanned with OKEN Scanner

În ce privește suprimarea efectelor secundare s-a arătat că: *a*) serul obținut prin două injectări de antigen e mai puțin toxic decît cel obținut prin imunizare cronică (în schimb, după Woodruff, posedă o slabă putere imunosupresivă); trebuie folosit ser prin imunizare cronică după îndepărtarea anticorpilor hemaglutinanți și hemolitici; *b*) serul obținut cu limfocite din canalul toracic are o activitate antiplachetară mai slabă decît cel obținut cu celule splenice; prepararea primului cere cooperarea bolnavului și drenarea canalului toracic înainte de transplant; utilizarea limfocitelor din sîngele periferic e în studiu (56), ca și utilizarea limfocitelor din culturi de țesuturi (85); *c*) eliminarea durerii la locul injecției (intramuscular, subcutanat) nu e rezolvată. Injectarea intravenoasă nu e dureroasă, dar crește riscul reacțiilor anafilactice severe, iar complexele antigen-anticorp care s-ar putea forma în sînge pot provoca leziuni renale. Acest ultim pericol ar putea fi înlăturat temporar dacă preparatele nu ar conține anticorpi împotriva proteinelor serice, în schimb mai tîrziu apar anticorpi antiser antilimfocitar (86).

În concluzie, utilizarea serului antilimfocitar în transplante deschide unele perspective, deocamdată scăzînd riscul infecțiilor și al complicațiilor corticoterapiei, a cărei posologie poate fi diminuată.

4. DRENAREA CANALULUI TORACIC

E un mijloc de imunosupresie dovedit de Gowans și colab. (1962) și aplicat în clinica transplantelor de Dumont și colab. (1964) și Turner și colab. (1965) (vezi *Partea a doua, capitolul 7*).

Actualmente nu constituie decît un adjuvant neobligatoriu între metodele imunosupresive. Unii autori (64; 74) susțin că drenarea limfei din canalul toracic nu prelungește net supraviețuirea organelor grefate și are numai avantajul de a furniza limfocite pentru prepararea serului antilimfocitar. Alți autori (Tilney, Murray, 1966—1968; Sarles și colab. 1968) citează, la bolnavi cu rinichi transplantați și drenaj limfatic abundent, cu limfopenie consecutivă, asociat chimioterapiei imunosupresive, o împuținare semnificativă a reacțiilor de respingere față de martorii operați și supuși numai medicației imunosupresive. Utilizarea drenajului limfatic, în afara oricărei alte imunosupresii, asigură singură protecția împotriva respingerii (Sarles, 1968).

În orice caz, ca furnizor de limfocite și eventual pentru dializa limfatică în uremie, drenarea canalului toracic poate fi foarte utilă. Detalii și bibliografia sînt prezentate în *Partea a doua, capitolul 7*.

5. TIMECTOMIA

E o metodă imunosupresivă utilizată mai mult experimental sau pentru prelevare de timocite necesare preparării serului antilimfocitar (vezi *Partea a doua, capitolul 6*).

Respingerea grefei a fost prevenită prin timectomie mai întîi de Miller, Good (52), la șoareci nou-născuți. La animale adulte nu apare acest efect. În schimb, asociind timectomia cu radioterapie sau cu serul

Scanned with OKEN Scanner

antilimfocitar (Jrejerbhoy, 1965; Monaco şi colab., 1966) (citaţi de 83), reactivitatea imunologică a animalelor revine mai greu. În clinica transplantelor, timectomia nu e utilizată, deoarece acest organ involuează la adulţi.

6. SPLENECTOMIA

Ca mijloc imunosupresiv în transplantarea organelor, splenectomia e utilizată ocazional, ca adjuvant, mai mult în transplantele renale, pentru a procura celulele splenice necesare la prepararea serului antilimfocitar (Woodruff şi colab., 1969).

Un studiu detaliat privind rolul splinei în succesul transplantelor renale umane a fost efectuat de Pierce, Hume (1968). Autorii trag următoarele concluzii:

a) splenectomia nu a întîrziat respingerea primului transplant;

b) după îndepărtarea primului transplant şi întreruperea terapiei imunosupresive, splina creşte treptat în greutate şi îşi hipertrofiază centrii germinali;

c) splenectomia ameliorează rezultatul retransplantelor. Ameliorarea constă în rărirea respingerii acute la al doilea, al treilea sau al patrulea transplant, consecutiv splenectomiei;

d) splenectomia nu influenţează respingerea hiperacută (respingere datorită anticorpilor preformaţi care atacă transplantul la a doua transplantare şi pot duce la necroză corticală severă în 10 minute). De altfel, respingerea hiperacută nu poate fi prevenită actualmente decît prin selecţia donatorilor, căci imuranul, prednisonul, globulina antilimfocitară, splenectomia, nu asigură protecţia (33).

În concluzie, dintre mijloacele imunosupresive utilizate în transplantarea organelor sînt folosite actualmente curent şi aproape obligatoriu azatioprina şi corticoterapia. Serul şi globulina antilimfocitară deschid mari perspective pentru a scădea posologia celorlalte imunosupresoare şi a preveni complicaţiile corticoterapiei, mai ales infecţiile. Radioterapia joacă un rol relativ redus, fiind utilizată actualmente sub forma iradierii locale în cursul respingerii acute. Celelalte mijloace limfopenizante (drenarea canalului toracic, timectomia, splenectomia) sînt folosite ocazional, mai mult din necesitatea de a prepara serul antilimfocitar. Unele echipe chirurgicale au introdus splenectomia ca o metodă curentă în protecţia transplantelor secundare renale (62).

Toate aceste mijloace imunosupresive previn în bună parte reacţiile de respingere acută a organelor transplantate, reacţii determinate primar de atacarea directă a transplantului de către anticorpii purtaţi de limfocitele sensibilizate (33). Respingerea cronică — datorită, se pare, anticorpilor umorali, cu lezarea endoteliului şi a membranei bazale a vaselor — nu e influenţată de nici unul din agenţii imunosupresivi disponibili. Aceştia sînt la fel de ineficace în ce priveşte respingerea hiperacută determinată, în transplantele secundare, de anticorpii formaţi cu ocazia primului transplant. Rezultă că metodele imunosupresive actuale, deşi au dus la succese mari în transplantări (atît în grefele renale, cît şi în

Scanned with OKEN Scanner

cele hepatice, cardiace, pancreatice, pulmonare*), nu sînt suficiente; se impune evitarea reacţiilor de respingere printr-o selecţie atentă a donatorilor.

De asemenea, trebuie căutate metode de imunosupresie specifică, pentru a induce o toleranţă durabilă, specifică. Aceasta ar permite oprirea terapiei imunosupresive la scurt timp după transplantare, evitînd complicaţiile respective. Actualmente, tratamentul imunosupresiv continuu e obligatoriu (Woodruff citează cazul unui bolnav cu rinichi transplantat de la tatăl său, căruia i s-a întrerupt tratamentul continuu cu azatioprină după cinci ani, în ultimii trei ani doza fiind minimă, de 25 mg azatioprină pe săptămînă. La trei săptămîni după oprirea imunosupresiei a apărut o criză de respingere severă, pentru a cărei jugulare au fost necesare doze mari de medicamente).

SELECŢIA DONATORILOR

Limitele actualelor metode imunosupresive impun studiul histocompatibilităţii donatorilor şi receptorilor înainte de transplantare. Testările sînt larg utilizate în transplantele renale (14; 29) şi au fost începute în transplantele cardiace (Cooley şi colab., 1968 etc.). Selecţia donatorilor, alături de progresele terapiei de imunosupresie şi ale tehnicii hemodializei extracorporale, explică succesele actuale ale transplantelor de rinichi.

Metoda cea mai utilizată pentru testarea histocompatibilităţii se bazează pe decelarea antigenelor leucocitare *(HL-A)* ale donatorului şi ale receptorului (tehnica leucoaglutinării, a limfotonicităţii, fixarea complementului pe trombocite), metodă iniţiată de Dausset în 1958, urmat de Terasaki şi colab. (59; 73; 78). Dausset (1969) prezintă următoarele rezultate: din 89 perechi de donatori-receptori testaţi şi apoi operaţi pentru transplant renal, 15 perechi erau *HL-A* identice (cu două haplotipuri *HL-A* identice) şi nu a survenit nici o respingere; 43 de perechi au avut *HL-A* semiidentice (cu un singur haplotip comun) şi şase cazuri (14%) au prezentat respingeri; 31 de perechi au avut *HL-A* diferite (nici un haplotip comun) şi au prezentat respingeri în 13 cazuri (42%). Practic se pot considera identici şi cei cu incompatibilitate imposibilă (cînd donatorul e homozigot pentru un antigen prezent în formă heterozigotă la receptor). Histocompatibilitatea se exprimă cel mai bine prin raportul identităţi/incompatibilităţi (din 56 de cazuri *HL-A* semiidentice, cele 50 care au evoluat şase luni fără respingere aveau un număr de identităţi egal sau mai mare decît numărul incompatibilităţilor). Deci, după Dausset, nu contează gradul de rudenie dintre donator şi receptor, decît în măsura în care se exprimă în identitate

* Succesul mai mare al transplantării rinichilor faţă de celelalte organe nu se datoreşte toleranţei imunologice mai bune faţă de rinichi. Dimpotrivă, după unele date, cordul (5) şi ficatul (Calne şi colab., 1969) au antigenicitate mai slabă; deci, nu ineficienţa terapiei imunosupresive explică rezultatele sărace în grefarea acestor organe (vezi mai departe).

Scanned with OKEN Scanner

HL-A. Donatorii neînrudiţi cu receptorul, dar cu *HL-A* identice, se comportă ca nişte cvasigemeni. Unele eşecuri se explică prin faptul că, în afara celor 11 antigene leucocitare testate, mai există şi alte antigene leucocitare şi tisulare necunoscute, în general însă slabe şi uşor de neutralizat cu terapia imunosupresivă curentă (17).

Acest punct de vedere atît de optimist al lui Dausset (1969) necesită cîteva corecţii. Antigenele leucocitare nu ne pot da gradul histocompatibilităţii în toate cazurile de transplante, indiferent de organul transplantat. Nu există două ţesuturi care să aibă aceeaşi structură antigenică (Antoine, Hamburger, 1960) (citaţi de 29). Chiar în transplantele renale cu acelaşi grad de identitate (incompatibilitate antigenică), leziunile imunologice sînt foarte variate, uneori în interstiţiu, alteori în artere sau glomeruli. Aceasta sugerează existenţa unei compatibilităţi specific tisulare.

Deocamdată, testele de compatibilitate *HL-A* orientează corect asupra şanselor imunologice de reuşită a transplantelor renale. Ele s-au dovedit utile şi în transplantele cardiace.

La studiul compatibilităţii antigenelor leucocitare se adaugă actualmente obligatoriu studiul compatibilităţii *ABO* şi testul încrucişat cu limfocite pentru detectarea anticorpilor preformaţi (cauză a respingerii hiperacute). Williams (80), din 11 cazuri cu anticorpi preformaţi supuse la transplant, observă şase grefe renale nefuncţionale, un transplant hepatic şi unul cardiac funcţionînd tranzitor, şi trei grefe renale funcţionînd normal. Terasaki găseşte anticorpi preformaţi la şapte (4,3%) din 161 de receptori potenţiali de transplant de cord. El notează însă că, în contrast cu transplantul renal, în cel cardiac sînt rare insuficienţele imediate asociate anticorpilor umorali.

În concluzie, testele globale de histocompatibilitate actuale, aplicabile la toate organele şi ţesuturile, reprezintă un sprijin real, însă numai un început în încercările de a selecta donatorul ideal (29). În plus, deoarece nu există încă posibilitatea de a conserva în „bănci" organele care vor fi transplantate, urgenţa intervenţiei (în transplantul cardiac) şi raritatea donatorilor impun uneori transplantări cu grade variabile de incompatibilitate, decelabile cu testele actuale. Se face în aceste cazuri o selecţie pe baza unor criterii neimunologice (vezi în tabelul XX criteriile de selecţie aplicate în clinica Mecker pentru transplantul renal).

Selecţia donatorilor TABELUL XX

(schema aplicată pentru transplantele renale în Clinica Mecker, 1971)

A. *Criterii imunologice*

1. Determinarea serologică a antigenelor de histocompatibilitate leuco-plachetare

Principiul: punerea în contact a leucocitelor sau plachetelor subiecţilor de testat cu bacterii de imunoseruri obţinute de la

- politransfuzaţi
- femei multipare
- voluntari imunizaţi prin
  - grefe de piele
  - injecţii intradermice
  - cu limfocite

Scanned with OKEN Scanner

Tehnici { leucoaglutinarea, citotoxicitatea, imunoaderența, aglutinarea celulară mixtă, fixarea complementului

Haplotipajul { Donatori *HL—A* { identici / semiidentici / diferiți

2. Cultură mixtă de limfocite (1964, F. Bach, Barbare Bain)

3. Alte teste imunologice { Grupele eritrocitare / Grupele de lipoproteine / Testul de transfer al limfocitelor / Testul hamsterului iradiat / Grefa prealabilă de piele / Cercetarea anticorpilor circulanți

B. *Criterii neimunologice*

1. Donatorii vii { Vîrsta: 20—50 de ani / Examenul stării de sănătate / Explorarea rinichiului, nefrologică și urologică (urografie, arteriografie) / Examen psihologic / Donatori: gemeni, rude, neînrudiți

2. Rinichi de cadavru { Vîrsta: 55—65 de ani / Natura bolii care a provocat moartea / Excluse: HTA, septicemii, hemopatii, hepatopatie acută, pancreatită acută, cancer

Controlul morții

Aprecierea funcției rinichilor { diureza / absența proteinuriei / ureea și creatinina sanguină

REZULTATUL IMUNOSUPRESIEI APLICATE ÎN TRANSPLANTE DE ORGANE

SCHEME TERAPEUTICE

Există numeroase scheme terapeutice de aplicare a mijloacelor imunosupresive, care depind mai mult de echipa chirurgicală și mai puțin de particularitățile imunologice ale organului transplantat. De aceea vom prezenta numai unele din ele, ca și cîteva date asupra stadiului actual al transplantelor de măduvă osoasă, ficat, pancreas, plămîn, cord și rinichi.

Remarcăm de la început că, deși au fost efectuate numeroase operații de transplant (vezi tabelul XXI), numai transplantele renale și în parte cele medulare au depășit faza experimentală, devenind mijloace de terapie clinică curentă. Transplantele hepatice, deși există supraviețuiri de peste un an (Starzl), ca și transplantele cardiace și pulmonare, nu sînt încă puse la punct, iar cele pancreatice se află la primele încercări. Așa cum am menționat anterior, succesele obținute în transplantele renale, față de alte organe, nu se datorează particularităților imunologice ale rinichiului, ci, în primul rînd, progreselor hemodializei, existenței a doi rinichi la fiecare individ și a donatorilor vii, relativei rezistențe a organismului în absența rinichilor (circa 10 zile), selecției donatorilor pe baza antigenelor leucocitare.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXI

Situaţia transplantărilor
(1.VII.1970)

prezentată la Cursul internaţional de transplante de organe, Lyon, mai 1971

Transplantări organe	*Număr*	*Renale*	*Cardiace*
Renale	4 320	4 320 transplante la 4 050 bolnavi	Echipe: 59
Cardiace	184	*2 108*=donatori vii	Transplante: 184
Hepatice	159	53 — gemeni monozigoţi	Supravieţuiri: 22
Medulare	74		3 luni=54%
Pulmonare	25	761 — frate sau soră	6 luni=42%
Pancreatice	19	923 — tată sau mamă	12 luni=35%
		371 — alt donator viu	Ritmul transplantărilor:
		2 212=rinichi cadavru	1967 — 2
			1968 — 101
			1969 — 47
			1970 — 34

IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTELE DE MĂDUVĂ HEMATOGENĂ

Istoric. Homografele de măduvă osoasă au fost efectuate pe om din 1956, de echipa profesorului G. Mathé, reuşindu-se grefări temporare sau permanente (43), parţial sau 100% funcţionale (44). Dintre aplicaţiile clinice, de un interes deosebit se bucură tratamentul subiecţilor iradiaţi accidental şi tratamentul leucemiilor, în acest din urmă caz rezultatele fiind relativ sărace (patru supravieţuiri de maximum 20 de luni, din 24 de cazuri cu leucemie limfoblastică acută care au primit transplant medular) (45).

Particularităţi imunologice. Transplantările de măduvă osoasă la subiecţi iradiaţi masiv se bucură de posibilitatea teoretică de a obţine himerismul de iradiaţie: toleranţa receptorului la toate ţesuturile donatorului, bazată pe distrugerea totală a măduvei osoase proprii şi producerea anticorpilor exclusiv de către celulele imunocompetente ale ţesutului transplantat (45). Această situaţie, cunoscută la animale de laborator iradiate în doză suficientă (42; 23; 63), a fost descrisă la om de Mathé şi colab., care, pe transfuzii de măduvă de la donatori multipli, observă că grefele de piele persistente provin numai de la donatorul a cărui măduvă a fost grefată cu succes.

De obicei, însă, apare un sindrom secundar bazat în primul rînd pe reacţia grefonului împotriva gazdei, cu hiperplazie limfoidă (vezi *Partea întîi, capitolul 2)*, ceea ce impune cîteva măsuri:

a) selecţia donatorilor prin testul histocompatibilităţii indirecte (*3rd Man Test*, descris de Mathé şi colab., 1962) şi al antigenelor leucocitare;

Scanned with OKEN Scanner

b) folosirea mai multor donatori;
c) medicaţie imunosupresivă.

În al doilea rînd apar manifestări ale insuficienţei imune cu privire la alte antigene: infecţii avînd un substrat neprecizat (45).

Schema terapiei de imunosupresie (45) utilizată pentru transplantarea măduvei osoase la bolnavi cu leucemie limfatică acută:

a) Iradiere totală a bolnavilor cu ajutorul Co^{60}, cu două surse de 3000 sau 4 000 curie, eliberînd 5—6 rad/min, doza totală de iradiere tisulară de circa 800 r fiind fracţionată în două reprize, la un interval de 24 de ore.

Măduva osoasă se transplantează după iradiere, la intervale variabile (în majoritatea cazurilor a doua zi), cu un număr variabil de celule de la mai mulţi donatori (între $1{,}09 \times 10^{10}$ şi $7{,}57 \times 10^{10}$ celule, în medie 2 ml măduvă).

b) Corticoterapia de rutină precedă şi urmează transfuzia.

c) Ametopterină şi/sau ciclofosfamidă* sau metotrexat după transfuzie şi adesea şi anterior, pentru controlul fenomenelor acute leucemice. (În aceste cazuri, înainte de iradiere au fost efectuate adesea una sau mai multe transfuzii de sînge şi s-au administrat de regulă 6-mercaptopurină şi leucocristină.)

d) Serul antilimfocitar (globulină antilimfocitară de cal) a fost administrat la un singur bolnav, din prima zi a transplantării. În viitor se prevede pregătirea receptorului, pentru grefare, cu ser antilimfocitar. Van Bekkum, la maimuţe, obţine atenuarea sindromului secundar cu ser antilimfocitar, deşi trebuie administrate şi alte mijloace imunosupresive, antimitotice chimice în doze mai slabe, care acţionează, după Amiel (1), prin efect hipoplaziant medular.

e) Imunoglobuline administrate profilactic. Condiţii aseptice şi apoi hiposeptice controlate. Transfuzii cu trombocite şi administrare de acid epsilonaminocaproic.

Rezultatele sînt mediocre. Din 17 cazuri la care homografarea a reuşit, în toate a apărut un sindrom secundar, fatal în 13 cazuri şi controlat în patru (45), supravieţuirea maximă realizată fiind de 20 de săptămîni.

IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTELE HEPATICE

Primul transplant hepatic experimental a fost realizat de Welch (1955). La om, între 1963 şi 1967 s-au efectuat şapte transplantări ortotopice de ficat uman (Starzl şi colab.); în martie 1963 — mai 1967, o transplantare (Moor şi colab.) (1964), una de Demirleau şi colab. (1964). Dintre aceşti bolnavi, doi au murit imediat după operaţie, iar ceilalţi şapte au decedat după 6—23 de zile. Din 1967—1968, Starzl şi colab. au efectuat încă nouă operaţii, cu supravieţuiri de 2; 3 1/2; 4 1/2; 6 luni

* Tratamentul intens cu ciclofosfamidă permite realizarea unei grefe de celule medulare alogene la om, chiar fără a folosi iradierea totală. Dozele utilizate sînt tot atît de periculoase ca şi radiaţiile ionizante şi permit apariţia bolii secundare (reacţia grefei împotriva gazdei) (Santos) (citat de 1).

şi peste un an (cazul unei fetiţe de 18 luni, cu hepatom). De aceste transplante beneficiază bolnavii cu hepatoame, atrezie biliară extrahepatică.

Insuccesul relativ al transplantărilor de ficat, faţă de cele renale, se datoreşte (50):

— dificultăţilor tehnice ale operaţiei;

— dificultăţilor de păstrare a ficatului, foarte sensibil la anoxie, şi şanselor mici de a găsi la timp un donator în necroza hepatică acută;

— defectelor de coagulare sanguină;

— lipsei unui ficat artificial;

— hepatotoxicităţii dozelor mari de azatioprină; pericolului hepatitei de transplant consecutiv imunosupresiei.

Remarcăm că ficatul nu are antigenicitate mai mare decît rinichii, ba chiar barierele imunologice sînt mai mici (Calne, citat de Woodruff, 1969).

Medicaţia imunosupresivă folosită la Starzl include:

a) prednison (3—10 mg/kilocorp/24 de ore) din ziua întîi de operaţie, ajungînd progresiv la doza de întreţinere de 5—10 mg/zi şi crescînd doza în perioada respingerii. Dozele totale sînt relativ mici, deoarece majoritatea transplantelor se efectuează la copii;

b) azatioprină (imuran), 2—3 mg/kilocorp din prima zi de operaţie, scăzînd doza la 10 mg/24 de ore;

c) roentgenterapie locală (100—150 r, în una-trei şedinţe) în perioada respingerii; în unele cazuri, în aceeaşi perioadă, actinomicină *C* (6 µg/kilocorp/24 de ore);

d) globulină antilimfocitară heterologă preparată pe cal, injectată zilnic în primele 10 zile, apoi la două sau la trei zile; apoi doze de întreţinere, de două ori pe săptămînă, tot timpul supravieţuirii. Starzl îi acordă o mare importanţă.

Cu toată imunosupresia apar curent crize de respingere în primele trei săptămîni, cu anorexie, icter, creştere a transaminazelor serice, a bilirubinei serice şi fosfatazei alcaline, episoade reversibile prin mărirea dozelor supresive. Respingerea cronică, mai puţin studiată datorită timpului de supravieţuire, în general scurt, se manifestă sub forma fibrozei endoteliale arteriale (Starzl).

Evitarea complicaţiilor decurge la fel ca la alte transplante.

Progresele realizate în transplantele hepatice, cu supravieţuiri de peste un an, ţin (după Starzl) de îmbunătăţirea tehnicii operatoare, cu fixarea efectivă a ficatului în poziţia sa naturală, de testarea histocompatibilităţii cu selecţia donatorilor, de îmbunătăţirea imunosupresiei (doze adecvate imediat postoperator, utilizarea serului antilimfocitar ca medicament asociat).

IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTUL PANCREATIC

Anterior alotransplantării ortotopice de pancreas, efectuată de grupul lui Lillehei din Minnesota (1966), grefele experimentale prin anastomoze vasculare nu reuşeau (38), în primul rînd datorită autodigestiei

Scanned with OKEN Scanner

pancreatice, care apărea chiar la cîteva minute de ischemie pancreatică. Încercările de „uscare" a secreţiilor externe pancreatice prin ligaturarea canalelor sau prin iradiere nu au asigurat supravieţuirea şi nici aplicarea terapiei de imunosupresie (după cum au demonstrat Lillehei şi colab., capacitatea antigenică a transplantului pancreatic este mult mai mică decît a celui renal) (37; 38).

La oameni, primele transplantări reuşite ale blocului pancreatico-duodenal le-a realizat echipa lui Lillehei, care a operat şase bolnavi cu diabet juvenil sever, cu complicaţii vasculare şi nefropatie gravă; insuficienţa renală cronică terminală a determinat în cinci cazuri transplantarea simultană a rinichiului (38). Supravieţuirea maximă a fost de 166 de zile (cazul al patrulea); grefonul pancreatic transplantat a funcţionat în trei cazuri. În cazurile nr. 2 şi nr. 5, deşi pancreasul şi rinichiul proveneau de la acelaşi cadavru, s-au produs crize de respingere exclusiv renale, fără nici o reacţie gravă a pancreasului. Aceasta demonstrează categoric puterea antigenică mai mică a pancreasului faţă de rinichi şi faptul că, în evoluţia transplantelor, barierele nu sînt numai de ordin imunologic. Cauza morţii au constituit-o, în majoritatea cazurilor, complicaţiile infecţioase.

Terapia imunosupresivă folosită de echipa din Minnesota cuprinde: azatioprină, prednison şi globuline antilimfocitare (pentru ultimele trei cazuri). Administrarea a început în ziua operaţiei, dozele variind cu starea clinică a bolnavului (cazul nr. 2 a primit 400 mg azatioprină/24 de ore şi pînă la 300 mg prednison/24 de ore în perioada iniţială şi în crizele de respingere renală). Alte echipe (Bortagarary şi colab., 1969) administrează 150 mg azatioprină/24 de ore şi 20 mg prednison, cu 8 zile înainte de transplantare. Globulina antilimfocitară de cal este administrată de echipa lui Lillehei în doze de 4 mg/kilocorp, la început zilnic, apoi intermitent. Bortagarary şi colab. administrează în respingeri acute pînă la 30 000 unităţi de ser antilimfocitar/24 de ore, scăzînd ulterior doza pînă la 2 000 u./24 de ore, cu o limfocitoză de 300 elemente/mm^3.

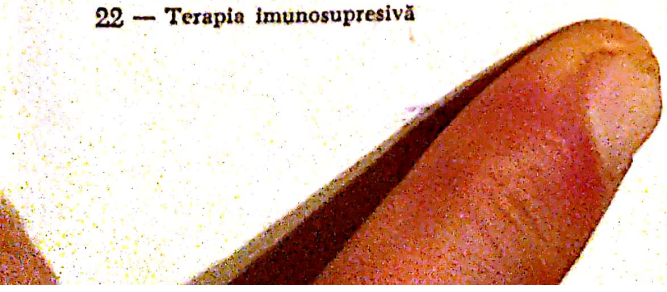
În general, dozele de medicamente imunosupresive variază foarte mult de la caz la caz şi de la operator la operator. Standardizarea chiar aproximativă a dozelor de ser sau globulină antilimfocitară e şi mai dificilă, deoarece puterea serului depinde de metoda de preparare.

În concluzie, grefele de pancreas înregistrează primele succese, deşi perioadele de supravieţuire sînt încă scurte (sub 6 luni). Imunosupresia e eficientă; dificultăţile tehnice şi complicaţiile infecţioase reprezintă factorii de limitare în acest tip de transplant.

IMUNOSUPRESIA ÎN GREFELE DE PLĂMÎN

Primul homotransplant pulmonar uman a fost efectuat de Hardy şi colab. în 1963, urmaţi de Magovern, Yates.

Actualmente există peste 20 de cazuri. La om, supravieţuirile de peste o lună sînt extrem de rare (20); la cîine, media supravieţuirii e de 40 de zile (31).



Scanned with OKEN Scanner

Cauzele insuccesele (72).

a) leziunile preexistente ale plămînului restant; plămînul transplantat are perfuzia foarte bună, dar ventilaţia scăzută; plămînul restant îşi creşte volumul, primind majoritatea ventilaţiei, dar e slab perfuzat; în consecinţă, transplantul funcţionează ca un *shunt* fiziologic;

b) infecţiile frecvente.

Medicaţia imunosupresivă utilizată: azatioprină (imuran), prednison, iradiere mediastinală cu 600 r în primele zile (31) şi, mai recent, serul şi globulina antilimfocitară.

Limitarea transplantelor pulmonare nu ţine de gravitatea reacţiilor de respingere; acestea sînt stăpînite în general cu medicaţia imunosupresivă amintită. În statistica citată de Hardy (1969), un singur pacient a murit prin respingerea grefei, restul au decedat prin insuficienţă pulmonară sau suprainfectare.

În concluzie, tratamentul insuficienţei pulmonare cronice — cu ajutorul transplantelor de plămîn — e abia în stadiul experimental.

IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTELE CARDIACE

Supravieţuirea cîinilor cu transplant de inimă a fost realizată de Shumway şi Lower în 1959 (39). Aceşti autori au elaborat tehnica operatoare, folosită după opt ani de Barnard şi colab. (3 dec. 1967) pentru efectuarea primei homografe cardiace la om. Actualmente există o bogată cazuistică clinică, deşi supravieţuirea maximă abia a depăşit, în cîteva cazuri, un an (473 de zile supravieţuire maximă realizată pînă în 1969 de echipa de la Cape Town şi peste 3 ani supravieţuirea institutorului Louis Russel din Indianopolis).

Principalul obstacol în transplantele cardiace, dar nu singurul, îl constituie respingerea acută, şi mai ales respingerea cronică, cu alterare vasculară (hiperplazie a endoteliului coronar şi fibroză miocardică) (40). Indicatorii cei mai fideli ai crizei de respingere rămîn EKG (scade amplitudinea undei *R*) şi creşterea lacticodehidrogenazei, care confirmă adiţional acest proces (febra, leucocitoza şi alte semne generale de însoţire a crizei sînt necaracteristice) (40). S-a spus că ţesutul muscular ar fi mai puţin antigenic cantitativ, deoarece o cantitate bine precizată de muşchi absoarbe mai puţini anticorpi umorali decît ţesuturile parenchimatoase (5). Totuşi, inima e expusă la respingeri cu aceeaşi frecvenţă ca şi rinichiul.

Schema imunosupresivă folosită de echipa lui Barnard la primul transplant cardiac (L. W.,54 de ani, 3 dec. 1967) (2):

a) corticoterapie, începînd din prima zi a operaţiei, cu hidrocortizon 500 mg i. v. şi prednison 60 mg *per os* în primele 24 de ore. Apoi hidrocortizonul a fost scăzut progresiv la 100 mg/24 de ore, prednisonul fiind menţinut la 60 mg/24 de ore;

b) azatioprină 150 mg/24 de ore, iar după ameliorarea debitului urinar 200 mg/24 de ore;

Scanned with OKEN Scanner

c) iradiere locală cardiacă cu o sursă de Co^{60} de 1 curie, începînd cu 100 rad în ziua a treia, apoi 85 rad în ziua a patra și 200 rad în a cincea, a șaptea și a noua zi.

Respingerea acută a fost combătută cu prednison 200 mg/24 de ore și actinomicină C 200 µg/24 de ore, timp de trei zile.

Al doilea caz (dr. P. B., 57 de ani, la 2 ian. 1968, echipa de la Cape Town) a primit același tratament imunosupresiv, cu excepția iradierii locale, care a fost omisă.

Schema terapeutică actuală a echipei de la Cape Town (7) cuprinde:

a) corticoterapie în doze mari inițiale (500 mg prednison/24 de ore, scăzînd treptat la 30—60 mg/24 de ore în cîteva săptămîni. Administrarea începe din prima zi a operației și nu se întrerupe decît pe scurte perioade, în caz de complicații. La intervale de șapte-zece zile se administrează doze mari de prednison (100 mg), profilactic; în caz de respingere acută, dozele cresc în funcție de starea clinică;

b) azatioprină, 2,5—3 mg/kilocorp/24 de ore;

c) s-a adăugat, ca mijloc imunosupresiv adjuvant, ser sau globulină antilimfocitară, preparată și dozată diferit, de la caz la caz. Standardizarea serului antilimfocitar pe baza unor testări *in vitro* încă nu e posibilă. În general se injectează preoperator o cantitate de globulină antilimfocitară, apoi se administrează zilnic și ulterior spațiat.

Introducerea serului antilimfocitar ca mijloc imunosupresiv e considerată ca un real progres pentru a preveni respingerea, existînd speranța de a suprima preferențial imunitatea celulară față de cea umorală, de a reduce dozele de cortizon și de a mări, consecutiv, rezistența la infecții, deocamdată principala cauză a morții (65).

Schemele terapeutice imunosupresive ale altor echipe chirurgicale nu diferă semnificativ. Echipa lui Cooley de la Houston (1969) folosește metoda aplicată de Starzl în transplantele renale:

a) Corticoizi: imediat preoperator hidrocortizon 8 mg/kilocorp i.v. și prednisolon 1 mg/kilocorp i.m., doze repetate la șase ore după operație. La sfîrșitul primei luni, doza de prednisolon e scăzută progresiv la 1 mg/kilocorp, apoi la 0,65—0,5 mg/24 de ore.

Săptămînal se administrează oral 3 mg metilprednisolon/kilocorp, pentru a stopa respingerea latentă.

Hidrocortizonul e întrebuințat de cîte ori există semne manifeste de respingere.

b) Azatioprină: imediat preoperator, *per os* prin sondă nazo-gastrică, 4 mg/kilocorp, apoi 3 mg/kilocorp/24 de ore în primele două zile postoperator, apoi 2 mg/kilocorp/24 de ore în următoarele două zile. Doza de întreținere e doza maximă compatibilă cu funcționarea măduvei osoase (doza care nu provoacă anemie, leucopenie, trombocitopenie). Hemograma de control, ca și mielograma, se repetă periodic.

c) Globulina antilimfocitară, preparată pe cal injectat cu timocite, e administrată intravenos sau intramuscular, imediat înainte de operație și apoi zilnic. Doza e determinată prin titrul citotoxic al preparatului, indicele de *clearance* al dozelor marcate de globulină antilimfocitară și numărătoarea limfocitelor în sîngele periferic.

Scanned with OKEN Scanner

Cele mai grave complicaţii ale terapiei imunosupresive le provoacă dozele mari şi prelungite de corticoizi. Echipa de la Houston citează: infecţiile (cauza principală a morţii), aspectul cushingoid, hemoragiile digestive superioare grave, necesitînd transfuzii (două cazuri din 19 transplante efectuate pînă la 7 aprilie 1969), şapte cazuri de evidenţiere clinică sau agravare a diabetului (necesitînd insulină şi sulfamide hipoglicemiante).

Un ultim progres în transplantele cardiace îl reprezintă selecţia donatorilor prin testarea histocompatibilităţii, pe baza sistemului *HL-A* leucocitar. Echipa de la Houston evidenţiază strînsa corelaţie dintre durata supravieţuirii şi gradul compatibilităţii donator-receptor (58; 27).

Selecţia donatorilor e însă mult mai dificil de efectuat decît în cazul transplantelor renale. Donatori vii nu există. Intervenţia e adesea solicitată de urgenţă, receptorii fiind coronarieni în stare extrem de gravă. Conservarea cordului în bănci de organe, ca şi a celorlalte organe, nu e deocamdată posibilă.

În concluzie, transplantarea inimii e o realitate clinică. Deocamdată, însă, reacţia de respingere nu este stăpînită, medicaţia imunosupresivă necesară antrenează complicaţii mortale, operaţia e extrem de costisitoare, iar valoarea terapeutică încă incertă (65).

IMUNOSUPRESIA ÎN TRANSPLANTELE RENALE

Toate principiile imunosupresive prezentate anterior se bazează pe experienţa furnizată de transplantarea rinichilor, operaţie care a depăşit faza încercărilor clinico-experimentale, devenind o metodă clinică curentă în tratamentul insuficienţelor renale cronice în stadiul terminal.

Ameliorarea anuală a rezultatelor transplantelor renale se datoreşte:

a) selecţiei pe scară largă a donatorilor, pe baza testelor *HL-A* de histocompatibilitate. Selecţia donatorilor e corelată direct cu supravieţuirea de lungă durată şi prevenirea respingerii cronice (Lancet, 1970);

b) pregătirea adecvată a receptorilor cu ajutorul hemodializei (asigură protecţia organismului pînă în momentul în care rinichiul transplantat îşi reia funcţia);

c) folosirea imunosupresoarelor la timp, în doză adecvată (combat respingerea acută, asigură supravieţuirea iniţial);

d) conservarea mai adecvată a rinichilor care vor fi transplantaţi (foarte importantă cînd se folosesc rinichi de cadavru, care asigură de obicei supravieţuiri mult mai scurte şi nu funcţionează imediat postoperator, probabil datorită leziunilor ischemice).

Progresele grefelor renale reprezintă punctele cheie ale istoriei transplantelor. În 1902, Ullman şi Carrel publică separat realizarea unor autotransplante renale la cîine, iar Carrel, în 1912, la primirea premiului Nobel, declara că, din punct de vedere tehnic, problema transplantelor a fost rezolvată. Funcţia homografelor era însă complet abolită prin respingere. Kolff, în 1943, realizează primul rinichi artificial. În 1959,

Scanned with OKEN Scanner

la Boston, Merril şi colab., şi la Paris Hamburger, realizează primele homografe renale umane între gemeni neidentici prin introducerea terapiei imunosupresive (iradiere totală a organismului), după ce aceleaşi echipe chirurgicale realizaseră transplante renale viabile între gemeni univitelini, fără a fi nevoie de imunosupresie (Merrill, 1956).

La 2 febr. 1962, Hamburger şi colab. efectuează cu succes o transplantare renală între non-gemeni (între veri). Dausset şi colab. (1958), Van Rood şi colab. (1969), Terasaki (1964) elaborează teoria histocompatibilităţii indivizilor neînrudiţi care au antigene leucocitare de tip *HL-A* identice. Studiile şi testele lor se bazează pe datele care atestă transferul imunităţii de transplant cu ajutorul limfocitelor (Medawar, 1946).

Introducînd în clinică chimioterapia imunosupresivă (Starzl) şi folosind imunosupresia modernă (azatioprină, prednison, ser antilimfocitar, eventual actinomicină C şi radioterapie locală a grefei), pe de o parte, şi selectînd donatorii, pe de alta, suplinind totodată orice deficienţă funcţională renală cu ajutorul hemodializei, s-au obţinut combaterea respingerii acute, prevenirea respingerii cronice şi supraacute şi supravieţuirea majorităţii transplantelor renale peste doi ani.

Al şaptelea Raport din *Kidney transplant registry* arată, pentru rinichii prelevaţi de la donatori vii, supravieţuiri de peste un an în 87% din cazuri, de peste doi ani în 87% din cazuri, iar pentru rinichii prele-

TABELUL XXII

Indicaţiile şi contraindicaţiile transplantării renale

(Cursul internaţional asupra transplantărilor de organ, Lyon, mai 1971)

- ***Indicaţii***
  - Momentul transplantării în nefropatia cronică
  - Vîrsta
  - Bolile care necesită transplant
    - Glomerulonefrite
    - Nefropatiile interstiţiale şi pielonefritele ascendente
    - Nefroangiosclerozele
    - Rinichii polichistici
    - Nefropatii congenitale diverse
    - Distrucţia traumatică a rinichiului
- ***Contraindicaţii***
  - Absolute
    - Amiloidoza
    - Periarterita nodoasă
    - Angeitele difuze
  - Relative
    - Nefropatia diabetică
    - Nefropatia lupică
    - Sindromul Goodpasture
    - Sindromul hemolitic şi uremic
    - Cistinaza, oxaloza
- ***Agravate de imunosupresoare şi corticoizi***
  - Septicemie severă
  - Tuberculoză pulmonară
  - Ulcer gastro-duodenal
  - Prezenţa antigenului Australia
  - Psihoze
  - Cancer

Scanned with OKEN Scanner

vați de la cadavru, supraviețuiri de peste un an în 42% din cazuri, și de peste doi ani în 40% din cazuri. Ca urmare, indicațiile transplantării renale s-au lărgit (tabelul XXII).

Terapia imunosupresivă e identică, indiferent de donatori. Intervin însă — în cazul rinichilor de cadavru — lipsa testării histocompatibilității și leziunile ischemice care precedă momentul transplantării, în condițiile actuale, în care nu există metode adecvate de conservare a organelor pe termen lung. Încă o dată, factorul imunologic, esențial pentru supraviețuirea grefelor, nu e unic. Complicațiile terapiei de imunosupresie (în primul rînd infecțiile) sînt principala cauză a eșecurilor.

Schemele terapiei de imunosupresie aplicată în transplantele renale de Woodruff (83) și Fries (24) au fost prezentate în *Partea generală*, de imunosupresie în transplante, iar schema lui Starzl, în paragraful anterior asupra transplantelor cardiace. Deși există diferențe de doze și preparate, schema generală e comună, și anume (61):

Tratament de bază

1. azatioprină 3 mg/kilocorp din ziua operației (doze mai mici în cazul rinichilor de la cadavru, deoarece în primele zile sînt slab funcționali, oligurici) (Lancet, 1970);

2. prednison: *a*) Hamburger (1969) nu-l administrează decît în crizele de respingere; *b*) Woodruff (1967) îl prescrie cu 24 de ore înainte de transplantare. Alți autori (Pichlmaier, 1969) administrează din ziua a doua pînă în a șaptea 100 mg/24 de ore, în săptămîna a doua 60 mg/24 de ore, în săptămîna a treia 50 mg/24 de ore, în săptămîna a patra 40 mg/24 de ore, scăzînd ulterior cu 5 mg pe săptămînă, pînă la 20 mg/24 de ore timp de trei luni, și o doză de întreținere ulterioară sub 10 mg/24 de ore; *c*) Traeger și colab. (1969) folosesc corticoizii sistematic abia la o lună postoperator, în doze de 0,5 mg/kilocorp/24 de ore sau, în caz de respingere a grefei, imediat postoperator. Aceasta e utilizarea cea mai rațională;

3. iradiere locală cu doze de 4×120 r la două zile, folosită de Fries și colab. (1968) numai în crizele de respingere; neutilizată de Woodruff și Hamburger (ultimul a efectuat, în schimb, 30 de operații după iradierea totală a receptorilor); utilizată de Pichlmaier (München);

4. serul antilimfocitar, dozat în funcție de puterea citotoxică a preparatului și numărul limfocitelor din sîngele periferic. Echipa din Lyon (24) administrează globulină antilimfocitară, zilnic, parenteral, cu zece zile înainte de operație și timp de șase săptămîni postoperator, în doze de 5 mg/kilocorp/24 de ore sau 500—750 u. rozetă/kilocorp/24 de ore, intramuscular sau intravenos. Echipa de la München perfuzează 10 ml/24 de ore, timp de patru săptămîni. Celelalte echipe chirurgicale (75; Woodruff, 1969) tind să folosească doze cît mai mari de ser sau globulină antilimfocitară, pentru a scădea în schimb posologia corticoizilor. Rămîne pericolul reacțiilor anafilactice la administrarea intravenoasă a serului antilimfocitar.

Scanned with OKEN Scanner

Serul şi globulina antilimfocitară se administrează tot timpul supravieţuirii, la început zilnic, apoi spaţiat, de trei ori, apoi de două ori pe săptămînă (Woodruff, 1967, 1969; 75).

Tratamentul respingerii acute a grefei

1. prednisolon 200 mg/24 de ore, cîteva zile (minimum două), eventual hemisuccinat de hidrocortizon intravenos;
2. actinomicină C, 200 μg la două zile, pînă la 800 μg (Pichlmaier, 1969);
3. iradieri locale: 2×120 r (Pichlmaier) sau 3×150 r (24).

Tratamentul e foarte eficient dacă se intervine la timp. Respingerea grefei renale nu are un tablou clinic specific, însă e însoţită de scăderea filtrării glomerulare, de scăderea perfuziei renale şi a diurezei, de scăderea natriurezei şi creşterea creatininemiei şi ureei sanguine, iar puncţia-biopsie renală pune diagnosticul de certitudine (51).

Complicaţiile cele mai grave şi frecvente ale transplantelor renale sînt legate de terapia imunosupresivă (vezi anterior). Menţionăm drept complicaţii tipice transplantelor renale:

1. ulcerul gastric (favorizat de gastrita uremică + corticoterapie). Toţi bolnavii ulceroşi trebuie operaţi înainte de transplantarea rinichiului;
2. hipertensiunea arterială, care trebuie prevenită prin nefrectomie bilaterală;
3. hiperparatiroidismul secundar insuficienţei renale prelungite. Nici dializa permanentă optimă nu poate împiedica această complicaţie. Echipa din München preconizează o operaţie anterioară transplantului, constînd în îndepărtarea a trei-patru paratiroide hiperplaziate, în următoarele cazuri: hiperparatiroidism secundar confirmat; calcificări vasculare şi degenerescenţă marcată a scheletului;
4. infecţiile: în criteriile de selecţie a donatorilor intră şi prelevarea unui rinichi neinfectat şi extirparea bilaterală a rinichilor cu infecţii urinare preexistente.

Se dă o mare atenţie focarelor infecţioase digestive, care trebuie eradicate înainte de transplant.

Condiţiile de asepsie şi hiposepsie în care e menţinut operatul sînt identice pentru toate transplantele;

5. complicaţiile la nivelul colonului: Penn şi colab. (1970) (60) observă la 11 receptori de homografe renale, sub imunosupresoterapie, perforaţii, colite, fecaloame la nivelul colonului. Toate cazurile cu perforaţii şi colită severă ajung la exitus. Fecalomul pe colonul ascendent poate fi tratat conservator sau chirurgical.

În schimb, în absenţa complicaţiilor, în condiţiile unui tratament imunosupresiv corect, evoluţia transplantelor renale e favorabilă şi a putut fi sistematizată în timp, după cum rezultă din tabelul XXIII.

Concluzii. Terapia imunosupresivă, folosită actualmente în transplantarea organelor, evită în majoritatea cazurilor respingerea acută a grefelor. Respingerea cronică şi cea supraacută sînt mediate prin alte

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXIII

Evoluţia favorabilă a transplantului renal

(cursul internaţional asupra transplantelor de organe, Lyon, 1971)

Transplantare renală

Postoperator imediat	*Evoluţie ulterioară*
Diureza: creşte imediat şi revine la normal în 48—72 de ore	— Creştere ponderală progresivă — Hipertrofie renală compensatoare
Proteinuria: creşte iniţial şi dispare în cîteva zile	*Clearence*-ul ureic, *clearence*-ul creatinic =75—100% din valoarea normală Proba concentraţiei, Osmolaritatea } normale
Filtrat glomerular =54 ml/min Flux plasmatic renal = 600—700 ml/min Flux sanguin renal=900—980 ml/min	— Modificări sanguine: — Anemia dispare în 6 săptămîni — 3 luni — Leucocitele cresc, apoi scad — Trombicitele sînt variabile
TA, F.O., Renina, Biopsiile } Revin la normal	— Polinevritele dispar — Calcemia şi fosforemia revin la normal — Leziunile osoase se corectează — Funcţiile genitale se normalizează — Integrare socio-profesională =73% — Evoluţie histologică { La 6 luni: 41% normal histologic; La 2 ani: 47% normal histologic } homotransplant

Scanned with OKEN Scanner

mecanisme imunologice, probabil umorale (33), nefiind influențate de medicația actuală. În schimb, aceste forme de respingere pot fi prevenite testînd histocompatibilitatea donator-receptor, efectuată actualmente cu destul succes prin tipizarea antigenelor leucocitare.

Necesitatea dozelor mari de imunosupresoare (mai ales de prednison) expune la complicații grave, adesea mortale, pe prim plan fiind infecțiile. Prevenirea acestor complicații solicită perfecționarea globulinelor antilimfocitare, care să permită scăderea dozelor de corticoizi (Woodruff, 1969).

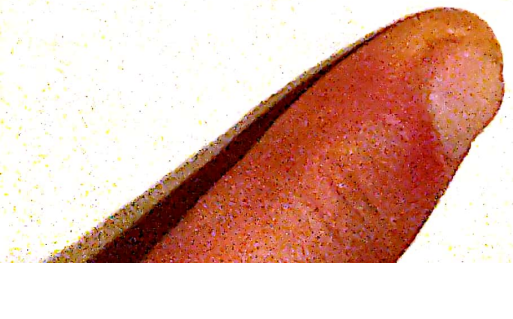
În viitor vor fi găsite probabil metode de inducere a unei toleranțe specifice față de grefă, care să permită nu numai homo-, ci și hetero-transplantări.

BIBLIOGRAFIE

1. *Amiel J. L.* — Immunodépression chimique. *Méd. Hyg.*, 1969, *27*, 894: 1 397.
2. *Barnard C. H.* — Clinical heart transplantation, *in*: Organ transplantation today. *Excerpta*, Amsterdam, 1969, p. 248.
3. *Batchelor J. R., Lessof M. H.* — *in:* Recent advances in medicine. Baron, Compton, Dawson (eds.), Churchill, London, 1964.
4. *Batchelor J. R.* — Mechanism of graft rejection. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1969, *62*, 9: 953—955.
5. *Berach H. M., Hors J., Dausset J.* — Concentration of transplantation antigens in human organs. *Lancet*, 1968, 2: 106.
6. *Bortagarary M. C., Nusimovich B., Lori R., Viaggio J., Zelasco J. F., Crouzel G., Cassin E., Bava A., Mathov E., Josto J., Maquieira N., Baum P.* — Expérimentation d'une greffe du pancréas chez l'homme. *Rev. Progr. thérap.*, 1969, 38, 20: 776.
7. *Botha M. C.* — Leucocyte-antigen matching in donor selection for heart transplantation. *Lancet*, 1969, 2, 7 619: 508—512.
8. *Butler W. T.* și colab. — Antilymphocyte globulin turnover rats in heart transplant patients. *Clin. Res.*, 1969, 17: 72.
9. *Calne R. Y.* — The rejection of renal homografts. Preliminary communication. *Lancet*, 1960, 1, 417.
10. *Calne R. Y.* — Inhibition of the rejection of renal homografts in dogs by purine analogues. *Transplant. Bul.*, 1961, 28, 445.
11. *Calne R. Y., Alexandre G. P. J., Murray J. E.* — A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplants in dogs. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1962, 99, 743.
12. *Cooley D. A., Hallman M., Leachman R., Nora M., Rochelle D., Messmer M.* — Résultats pratiques donnés par les greffes cardiaques. *Rev. Progr. thérap.*, 1969, *38*, 20, 728—738.
13. * * * — Cursul internațional asupra transplantării de organe. Lyon, mai 1971.
14. *Dausset J.* — Iso-leuco-anticorps. *Acta haemat.*, 1958, *20*, 156.
15. *Dausset J., Colombani J.* — Iso-anticorps anti-leucocytaires et anti-plaquettaires. Sérologie et importance pratique, en particulier pour les greffes. Proc. 8th Congr. Int. Soc. Blood Transf., Tokyo, 1960, Karger (ed.), Basel, 1962, 324.
16. *Dausset J., Rapaport F. T., Legrand L., Colombani J., Barge A., Feingold N.* — Les antigènes de transplantation *(HL-A)* étudiés par greffes de peau de 90 enfants sur leur pères. *Nouv. Rev. franç. Hémat.*, 1969, 9, 215.
17. *Dausset J., Hors J., Bigot J.* — Genotype study of *HL-A* histocompatibility in 91 kidney grafts. *Presse méd.*, 1969, 77: 1 699—1 704.

Scanned with OKEN Scanner

41. *Magovern G. J., Vates A. J.* — Human homotransplantation of left lung: report of a case. *Ann. N. Y Acad. Sci.*, 1964, 120: 710—728.
42. *Main J. M., Prehn R. T.* — Successful skin homograft after the administration of high dosage radiation and homologous bone marrow. *J. nat. Cancer Inst.*, 1955, 15, 1 023.
43. *Mathé G., Amiel J. L., Schwarzenberg L., Cattan A., Schneider M.* — Haematopoietic chimaera in man after allogeneic (homologous) bone marrow transplantation. Control of the secondary syndrome specific tolerance due to chimerism. *Brit. med. J.*, 1963, 2, 1 633.
44. *Mathé G., Amiel J. L., Schwarzenberg L.* — La greffe de moëlle osseuse. *Ann. Biol. Clin.*, 1965, 23, 567.
45. *Mathé G., Schwarzenberg L., Amiel J. L., Schneider M., Cattan A., Schlumberger J. R.* — Bone marrow transplantation. Immunogenetic and immunologic problems of allogeneic haemopoietic radio-chimaeras in man, *in:* Organ transplantation today, N. Mitchison, J. Greep, H. Verschure (eds.), *Excerpta*, Amsterdam, 1969, 118.
46. *Medawar P.* — The behaviour and fate of skin autografts and skin homografts in rabbits. *J. Anat. (Lond.)*, 1944, 78, 170.
47. *Merrill J. P., Murray J. E., Harrison J. H., Guild W. R.* — Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *J. Amer. med. Ass.*, 1956, 160, 277.
48. *Merrill J. P., Murray J. E., Harrison J. H., Friedman E. A., Dealy J. B. Jr., Dammin G. J.* — Successful homotransplantation of the kidney between non-identical twins. *New Engl. J. Med.*, 1960, 262, 1 251.
49. *Mezza di F.* — I farmaci immonosoppressori nei trapianti di organo. *Minerva chirurgica*, 1968, 23, 5: 212.
50. *Mikaeloff Ph.* — Experimental liver transplantation, *in:* Organ transplantation today, N. A. Mitchison, J. M. Greep, V. J. Hattinga (eds.), *Excerpta*, Amsterdam, 1969, p. 146.
51. *Millard P. R., Herbertson B. M., Evans D. B.* — Renal biopsy in clinical management of renal transplantation. A light microscopy study. *Lancet*, I, 1970, 7 638: 113—118.
52. *Miller J. F. A. P.* — The thymus and transplantation immunity. *Brit. med. Bull.*, 1965, 21, 111.
53. *Mitchison N. A.* — Pasive transfer of transplantation immunity. *Proc. Roy. Soc. Brit.*, 1954, 142, 72.
54. *Mitchison N. A.* — Transplantation immunology, *in:* Organ transplantation today, N. Mitchison, J. Greep, H. Verschure (eds.), *Excerpta medica, Amsterdam*, 1969, 13—21.
55. *Moore F. D., Birtch A. G., Dagher F., Veith F., Krisher J. A., Order S. E., Shucart W., Dammin G., Couch N. P.* — Immunosuppression and vascular insufficiency in liver transplantation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1964, 120, 729.
56. *Najarian J. S.* — Antiserum to cultured human lymphoblasts: preparation, purification and immunosuppressive properties in man. *Ann. Surg.*, 1969, 170: 617—632.
57. * * * — Nomenclature Committee. Nomenclature for factors of human leukocytes-antigen (*HL-A*) system. *Bull. World Health Organ*, 1968, 39: 483—486.
58. *Nora J. J., Cooley D. A., Fernbach D. J., Rochelle D. G., Milam J. D., Montgomery J. R., Leachman D. R., Butler W. R., Rossen R. D., Bloodwell R. D., Hallman G. L., Trentin J. J.* — Rejection of the transplanted human heart. *New Engl. J. Med.*, 1969, 280, 20: 1 079.
59. *Patel R., Mickey M. R., Terasaki P. J.* — Serotyping for homotransplantation. XVI. Analysis of kidney transplant from unrelated donors. *New Engl. J. Med.*, 1968, 279, 501.
60. *Penn J.* și colab. — Major colonic problems in human homotransplant recipients. *Arch. Surg.*, 1970, 100: 61—65.
61. *Pichlmaier H.* — Résultats pratiques donnés par les greffes du rein. *Rev. Progr. théraр.*, 1969, *38*, 20: 738—747.



Scanned with OKEN Scanner

83. *Woodruff M. F. A.* — Immunosuppression in relation to organ transplantation. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1967, 6: 128—130.
84. *Woodruff M. F. A.* — Allergic response and transplantation. The homograft reaction, *in:* P. G. Gell, R. A. Coombs — Clinical aspects of immunology. Blackwell, Oxford, 1968, 476—498.
85. *Woodruff M. F. A.* — Immunosuppression by antilymphocytic serum, *in:* Organ transplantation today. N. Mitchison, J. Greep, H. Verschure (ed.), *Excerpta*, Amsterdam, 1969 *a*, 90—99.
86. *Woodruff M. F. A.* — Immunosuppression and its complications. *Proc. Roy. Soc. Med.*, 1969 *b*, 62, 4: 411.
87. *Woodruff M. F. A., Nolan B., Robson J. S., McDonald M. K.* — Experience with renal transplantation in man. *Lancet*, I, 1969 *c*, 1, 6.
88. *Zukoski C. F.* — Canine renal homografts. Prolongation of homografts by delayed antimetabolite administration. *J. Amer. med. Ass.*, 1965, 191, 145.

Scanned with OKEN Scanner